PFLANZENINHALTSSTOFFE ALS ALTERNATIVINSEKTIZIDE

von

Beate Claßen

aus

Karlsruhe

Disbui. Erlangen

1987

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538114_0002

PFLANZENINHALTSSTOFFE ALS ALTERNATIVINSEKTIZIDE

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten

der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt

von

Beate Claßen

aus

Karlsruhe

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg.

Tag der mündlichen Prüfung:

Vorsitzender der Promotionskommission:	Professor Dr. Nollau
Erstberichterstatter:	Dr. Oskar Schimmer
Zweitberichterstatter:	Professor Dr. Hans-Jürgen Bestmann

Meinem lieben Bruder, Heinrich, gewidmet

Danksagung

Herrn Professor Dr. Hans-Jürgen Bestmann danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, für viele hilfreiche Gespräche und besonders für sein stetiges Bemühen um finanzielle Absicherung des Projekts, ohne das diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Herrn Dr. Otto Schimmer danke ich für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts und zahlreiche wertvolle Anregungen.

Herrn Professor Dr. Fred Klingauf und Frau Bärbel Weil, Institut für biologische Schädlingsbekämpfung der BBA Darmstadt, möchte ich für die Einführung in Methoden der Insektenzucht und des Schnelltestverfahrens und ihre stets freundliche Hilfsbereitschaft bei auftauchenden Zucht- und Testproblemen danken.

Herrn Professor Karl Hartmann gilt mein Dank für seine geduldige Hilfe bei statistischen Problemen.

Besonders danken möchte ich Herrn Uwe Kobold und Frau Elisenda Arboix für das freundschaftliche Arbeitsklima und die gute Teamarbeit, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen hat.

Allen anderen Mitarbeitern und Kollegen am Institut, die mich tatkräftig oder ideell unterstützt haben, möchte ich herzlich danken. Dies waren vor allem Herr Dr. Otto Vostrowsky (unser Forschungsleiter), Herr Dr. Joachim (unser Direktor), Herr Ludwig Dafner (unser Gärtner), Herr Böller und Herr Entian (Metallwerkstatt), Herr Fink (Holzwerkstatt) und Herr Wolff (Elektrowerkstatt).

I N H A L T

		Seite
A	Allgemeiner Teil	1
1.	Einleitung	1
1.1.	Die Notwendigkeit, neue Insektizide zu finden	1
2.	Probleme der modernen Schädlingsbekämpfung	4
2.1.	Die meistverwendeten Insektizide	4
2.1.1.	Synthetische Insektizide	4
2.1.2.	Pflanzliche Insektizide	8
2.2.	Resistenz	10
2.2.1.	Ursachen für das Auftreten von Resistenz	10
2.2.2.	Stand der Resistenz bis 1980	12
2.2.3.	Mögliche Gegenmaßnahmen	14
2.3.	Nebenwirkungen	16
2.3.1.	Nebenwirkungen auf Boden, Bodenbewohner, nützliche Arthropoden und Pflanzen	16
2.3.2.	Nebenwirkungen auf Gewässer, Fische und Vögel	19
2.3.3.	Nebenwirkungen auf Säugetiere und den Menschen	22
2.4.	Alternative zur Verwendung chemischer Pestizide - integrierte Schädlingsbekämpfung	25
2.4.1.	Kulturmaßnahmen und resistente Pflanzen	25
2.4.2.	Verwendung von Räubern, Parasiten und Pathogenen	26
2.4.3.	Besonnener Gebrauch von Kontrollagentien	27
B	Experimenteller Teil	33
3.	Material und Methoden	33
3.1.	Pflanzen	33
3.2.	Versuchstiere, Zucht	33
3.3.	Testverfahren	35
3.3.1.	Tests mit Blattläusen	35
3.3.1.1.	Schnelltests	35
3.3.1.2.	Dauertests	36

Seite

3.3.1.3.	Freilandtests	37
3.3.2.	Tests mit dem Mexikanischen Bohnenkäfer	38
3.3.3.	Lösungsmittel und Dosierung	38
3.4.	Gewinnung der Pflanzeninhaltsstoffe und Analytik	41
3.4.1.	Gewinnungsmethoden	41
3.4.2.	Fraktionierungsmethoden	42
3.4.3.	Analysemethoden	43
3.5.	Statistische Methoden	43
3.5.1.	Prüfung des Schnelltestverfahrens, Vorzeichentest	43
3.5.2.	χ^2 - Anpassungstest	44
3.5.3.	Statistische Auswertung von Dosis-Effekt-Versuchen	45
3.5.4.	Synergismus-Test	45
4.	Ergebnisse und Diskussion	47
4.1.	Lösungsmitteltests	47
4.2.	Screening	47
4.3.	Statistik zu den Schnelltests	56
4.4.	Untersuchte ätherische Öle	59
4.4.1.	Chrysanthemum balsamita L. (Balsamkraut)	59
4.4.1.1.	Systematische Stellung und Einführung	59
4.4.1.2.	Versuche zur Aufklärung des wirksamen Prinzips	60
4.4.1.3.	Untersuchung von jahreszeitlichen Unterschieden in der Wirksamkeit der Balsamita-Öle	68
4.4.1.4.	Synergismus-Untersuchung	77
4.4.1.4.1.	Definition des Begriffes Synergismus	77
4.4.1.4.2.	Ergebnisse der Synergismus-Untersuchung	78
4.4.1.4.3.	Diskussion zur Wirkungsweise von Pyrethroid-Synergisten	86
4.4.1.5.	Freilandversuch	89
4.4.1.6.	Tests mit dem Mexikanischen Bohnenkäfer	93
4.4.2.	Rhus typhina L. (Essigbaum)	96
4.4.2.1.	Systematische Stellung und Einführung	96

Seite

4.4.2.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips und Diskussion 97

4.4.2.3. Synergismus-Untersuchung mit den Hauptkomponenten der Fraktion d_5 und Diskussion 108

4.4.3. Elsholtzia-Arten 112

4.4.3.1. Systematische Stellung und Einführung 112

4.4.3.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips 112

4.4.3.2.1. Elsholtzia cristata Willd. (Kamminze) 112

4.4.3.2.2. Elsholtzia strobilifera Benth. 113

4.4.3.2.3. Elsholtzia pilosa und noch nicht bestimmte Elsholtzia-Art 114

4.4.4. Anethum graveolens L. (Dill) 115

4.4.4.1. Systematische Stellung und Einführung 115

4.4.4.2. Die Aphizid-Wirkung der Hauptbestandteile des Dillöls 116

4.5. Untersuchte Ethanol-Extrakte 118

4.5.1. Anethum graveolens L. (Dill) 119

4.5.1.1. Systematische Stellung und Einführung 119

4.5.1.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips 119

4.5.2. Betula pendula Roth. (Weißbirke) 121

4.5.2.1. Systematische Stellung und Einführung 121

4.5.2.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips 122

4.5.3. Physalis edulis (Andenbeere) 125

4.5.3.1. Systematische Stellung und Einführung 125

4.5.3.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips 126

4.6. Diskussion der Lösungsmitteleffekte 127

4.7. Abschließende Diskussion und Ausblick 128

C Zusammenfassung 132

Literaturverzeichnis 135

Lebenslauf

A Allgemeiner Teil

1. Einleitung

1.1. Die Notwendigkeit, neue Insektizide zu finden

Insekten können den Menschen in vieler Hinsicht schädigen. Es gibt Insekten, die Holz zerstören, sei es lebender Wald, das Gebälk eines Hauses oder Möbelstücke und Spezialisten unter den Insekten für Bücher, Stoffe, Teppiche und Genußmittel wie Tabak und Gewürze. Insekten können Krankheiten sowohl auf Nutzpflanzen und Nutztiere als auch auf den Menschen selbst übertragen (Malaria durch Moskitos, Pest durch den Rattenfloh, Typhus durch Kleiderläuse).
Allein der Umstand, daß die Weltbevölkerung ständig wächst, der Mensch also immer mehr Nahrung bereitstellen muß, um seine Artgenossen vor dem Hunger zu bewahren, macht uns viele Insekten zu lästigen Konkurrenten um die Nahrungsquellen. Jede vom Menschen kultivierte Pflanzenart wird von einer oder meist mehreren, verschiedenen Insektenarten heimgesucht. Dabei kann man zwischen polyphagen, die verschiedene Wirtspflanzen akzeptieren, und monophagen Insekten, die speziell eine Pflanzenart befallen, unterscheiden. Gerade in den modernen, großflächigen Monokulturen kann sich ein Schädling uferlos ausbreiten und große Ertragsminderungen verursachen. Schätzungen der weltweit durch Insektenbefall bedingten Verluste belaufen sich auf 140 bis 180 Mrd. DM pro Jahr, was etwa 35 % der möglichen Ernte entspricht (Wagner, 1982). Der Mensch hat nun durch die Anwendung von chemischen Insektiziden schon so gründlich in das natürliche Gleichgewicht zwischen Phytophagen und deren Predatoren eingegriffen, daß die Verluste bei Unterlassung von Bekämpfungsmaßnahmen noch gravierendere Ausmaße annehmen würden. Die von der chemischen Industrie hergestellten Schädlingsbekämpfungsmittel weisen meist ein sehr breites Wirkungsspektrum auf, was bedeutet, daß nicht nur der Schädling, sondern auch dessen natürliche Feinde wie räuberische Käfer oder in den Larven parasitierende Schlupfwespen mit vernichtet werden. In der Folge geschieht es, daß auch Schädlinge, denen früher geringe

landwirtschaftliche Bedeutung zukam, durch den Ausfall der natürlichen Feinde ernstzunehmende Plagen werden. In dem Buch "Ecological Effects of Pesticides on Non-Target Species", herausgegeben vom Executive Office of the President, Office of Science and Technology der USA, werden die Auswirkungen von Pestiziden auf natürliche Lebensgemeinschaften folgendermaßen zusammengefaßt:

1. Pestizide können die Individuenzahl einiger Arten in biotischen Gemeinschaften signifikant reduzieren, was einen ähnlichen ökologischen Effekt hat wie eine Reduktion der Artenzahl.
2. Eine gravierende Reduktion der Artenzahl kann zur Instabilität einer Gemeinschaft führen und in der Folge zu Populationsausbrüchen aufgrund der gestörten Balance.
3. Nach Pestizid-Anwendungen ist die Zunahme am unteren Ende der Nahrungskette - das sind die Pflanzenfresser - am wahrscheinlichsten. Zum Teil sind parasitische und räuberische Arten, die normalerweise die Zahl der Pflanzenfresser dezimieren, empfindlicher gegenüber Pestizidbelastung.
4. Außerdem können Verluste oder große Schwankungen in der Artenzahl der Phytophagen die von ihnen abhängigen Räuber und Parasiten schädigen, was wiederum die Struktur und Stabilität natürlicher Gemeinschaften stört (Pimentel, 1971).

Darüber hinaus hat sorglose Überdosierung und Daueranwendung von Pestiziden vielfach zu Resistenzbildung geführt, so daß Schädlinge unempfindlich gegen Bekämpfungsmittel werden. Es werden schon Studien angestellt, die sich mit der voraussichtlichen "Lebensdauer" der heutigen Insektzide beschäftigen. Schließlich tragen Insektizide auch zur Belastung unserer Umwelt bei, da viele schwer abbaubar sind und zudem Nebenwirkungen zeigen, die Flora und Fauna schädigen. Wir müssen um die Lebensfähigkeit der Böden und um die Qualität des Wassers besorgt sein. Agrarland muß neben den Insektiziden auch Herbizide, Fungizide, Akarizide, Molluskizide, Rodentizide und nicht zuletzt die manchmal überreichlich verwendeten Düngemittel verkraften. In der BRD werden jährlich 20 bis 23 tausend Tonnen Pflanzenschutzmittel ausgebracht (Ottow, 1982).

In dem anschließenden, vorab informierenden Teil, der durch Literaturarbeit zusammengestellt wurde, wird zunächst eine Übersicht zu den heute meistverwendeten Insektiziden gegeben. Weiter wird auf die Probleme der Resistenz und der Nebenwirkungen von Insektiziden eingegangen. Schließlich sollen als Alternative die Strategien und Möglichkeiten des integrierten Pflanzenschutzes vorgestellt werden. Eigene Arbeiten werden im danach folgenden experimentellen Teil dargestellt. Er möchte als Beitrag zur Erforschung pflanzlicher Insektizide, welche in integrierten Pflanzenschutzprogrammen Verwendung finden könnten, verstanden werden.

2. Probleme der modernen Schädlingsbekämpfung

2.1. Die meistverwendeten Insektizide

2.1.1. Synthetische Insektizide

Mineral- und Teeröle

Mineralöle sind seit mehr als 100 Jahren in Gebrauch. Sie werden gegen saugende Insekten und deren überwinternde Stadien als "Sommeröl" bzw. "Winteröl" in Form von wäßrigen Emulsionen eingesetzt. Außerdem dienen sie oft als Lösungsmittel für die modernen Kontaktinsektizide. Der Wirkmechanismus ist vorwiegend physikalisch - die Schädlinge werden erstickt. Empfindliche Pflanzen können ebenfalls Schaden nehmen, da durch die Filmbildung die Assimilation eingeschränkt wird.

Teeröle werden als Holzschutzmittel vor allem im Obstbau verwendet. Sie bestehen überwiegend aus aromatischen Verbindungen und wirken ebenfalls phytotoxisch. Häufiger Umgang mit Teerölen kann zu Ekzemen und Hautkrebs führen (Schmidt, 1986).

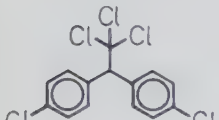
Anorganische Salze

Bis in die vierziger Jahre stellten anorganische Metallsalze den Hauptteil der Pflanzenschutzmittel. Als Insektizide wurden vorwiegend arsenhaltige Mittel wie Bleiarsenat und Calciumarsenat verwendet. Im Weinbau kam vor allem "Schweinfurter Grün" (Kupferarsenit + Kupferacetat) zum Einsatz. Arsensalze sind für Bienen relativ ungefährlich. Sie werden auch als Rodentizide verwendet und sind toxisch für alle Warmblüter. Sie wirken als Fraßgifte aufgrund der Eigenschaft des Arsens, thiolgruppenhaltige Enzyme zu hemmen (Schmidt, 1986).

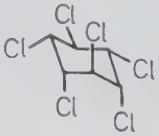
Chlorierte Kohlenwasserstoffe

Zu den Chlorkohlenwasserstoffen gehört das heute in vielen Ländern verbotene DDT und das in manchen Staaten nur beschränkt zugelassene γ-HCH; außerdem die Gruppe der halogenierten Cyclo-

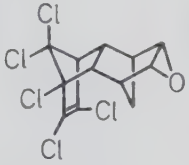
diene, z.B. das Dieldrin und das Endosulfan. Chlorierte Kohlenwasserstoffe sind weniger bienengiftig als Organophosphate und Carbamate (Atkins et al., 1973). Es handelt sich um nervenwirksame Kontaktinsektizide, die aufgrund schwerer Abbaubarkeit besonders umweltbelastend sind. Ihre Halbwertszeit im Boden beträgt bis zu 30 Jahre (Ottow, 1982).



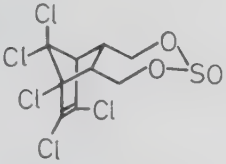
DDT



γ-HCH ("Lindan")



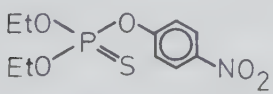
Dieldrin



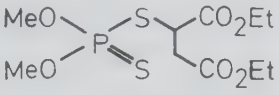
Endosulfan

Organophosphate

Das vielverwendete Parathion (= E 605) ist eines der aktivsten Organophosphate, es wirkt auch sehr toxisch auf Warmblüter. Organophosphate sind äußerst bienengiftig. Die Wirkung beruht auf der Hemmung des Enzyms Acetylcholinesterase durch Phosphorylierung. Das Enzym spielt eine wichtige Rolle bei der Übermittlung von Nervensignalen. Organophosphate werden schneller als chlorierte Kohlenwasserstoffe abgebaut, die Halbwertszeit im Boden beträgt einige Wochen bis Monate.



Parathion ("E 605")

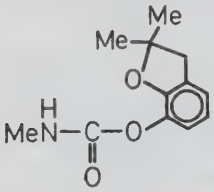


Malathion

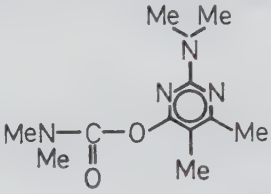
Carbamate

Unter den Carbamaten gibt es einige Vertreter mit selektiver Wirkung. Carbofuran wird gegen Bodenschädlinge eingesetzt, Pirimicarb ist ein Aphizid, das Nutzinsekten nicht beeinträchtigt, aber vermutlich mutagen wirkt. Carbaryl ist ein Carbamat mit breitem Wirkungsspektrum und für Warmblüter ungiftig. Die

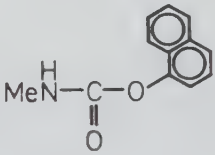
meisten Carbamate sind sehr bienengiftig; ihre Wirkung beruht ebenfalls auf Acetylcholinesterase-Inhibierung. Die Abbaubarkeit entspricht in etwa der der Organophosphate (Halbwertszeit im Boden einige Wochen bis mehrere Monate).



Carbofuran



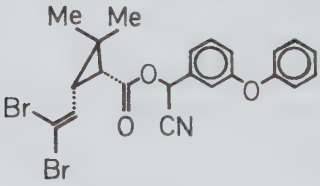
Pirimicarb ("Pirimor")



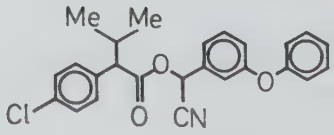
Carbaryl

Synthetische Pyrethroide

Sie leiten sich von dem natürlich vorkommenden Pyrethrin I ab, das licht- und temperaturempfindlich ist. In den synthetischen Derivaten sind diese Nachteile nicht mehr vorhanden. Unter den Pyrethroiden findet man einige der wirksamsten Insektengifte. Man benötigt für Bekämpfungsmaßnahmen nur 7 bis 50 g/ha gegenüber 200 bis 700 g/ha bei Carbamaten, ca. 600 g/ha bei Organophosphaten und 500 g bis 3 kg/ha bei chlorierten Kohlenwasserstoffen (Elliott, 1980). Pyrethroide haben ein sehr breites Wirkungsspektrum, die Toxizität gegenüber Warmblütern ist gering. Die Abbaubarkeit ist relativ gut (Halbwertszeit im Boden einige Wochen bis wenige Monate).Pyrethroide wirken neurotoxisch, ähnlich wie DDT.



Decamethrin



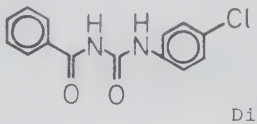
Fenvalerat ("Sumicidin 30")

Insektizide der "Dritten Generation"

Unter Insektiziden der "Ersten Generation" versteht man anorganische Präparate wie Bleiarsenat. Diese wurden in den vierziger Jahren abgelöst von der "Zweiten Generation", den synthetischen, organischen Produkten, die mit DDT eingeleitet wurde. Bei der "Dritten Generation" handelt es sich um Mittel, die in den Hormonhaushalt der Insekten eingreifen (Williams, 1967).

Chitinsyntheseinhibitioren

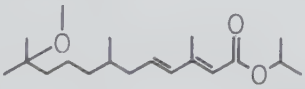
Bislang der einzige hier im Handel erhältliche Vertreter dieser Gruppe ist das Diflubenzuron ("Dimilin"). Es wirkt als Fraßgift für Insektenlarven. Bei der Häutung treten Fehlbildungen in der Entwicklung der Cuticulaschichten auf, so daß es zu Deformationen kommt. Der Tod tritt während oder kurz nach der Häutung ein. Auf adulte Insekten, deren Chitinpanzer genügend ausgehärtet ist, wirkt Diflubenzuron nicht toxisch. Seine Toxizität für Wirbeltiere ist sehr gering.



Diflubenzuron

Juvenoide

Die Juvenoide imitieren die Wirkungen der Juvenilhormone der Insekten. Sie stören die Embryonalentwicklung, verursachen überzählige Larvenstadien, hemmen die Metamorphose und verhindern so das Schlüpfen lebensfähiger Imagines. In den USA wird z.B. Methopren ("Altosid") gegen Homopteren und Dipteren (Moskitos etc.) angewandt.



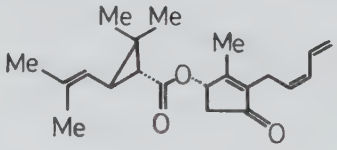
Methopren

2.1.2. Pflanzliche Insektizide

Sie sind leicht abbaubar und belasten somit die Umwelt kaum (siehe hierzu Schmidt, 1986).

Pyrethrum

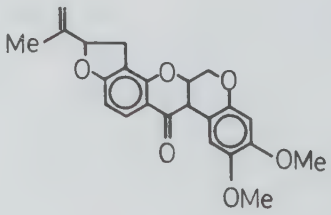
Das Pyrethrum wird aus den Blüten von Chrysanthemum cinerariifolium und C. coccineum gewonnen. Es besteht aus einem Gemisch der Chrysanthemummonocarbonsäureester Pyrethrin I, Cinerin I und Jasmolin I und der Pyrethrumsäureester Pyrethrin II, Cinerin II und Jasmolin II, die der Substanzklasse der Terpenoide angehören. Pyrethrin I ist der wirksamste Bestandteil. Um die Nachteile der Licht- und Temperaturempfindlichkeit zu kompensieren, werden Antioxidantien und Synergisten zugesetzt (z.B. Piperonylbutoxid, Sesamöl). Auch die natürlichen Pyrethroide haben ein breites Wirkungsspektrum, sind aber relativ ungefährlich für Warmblüter.



Pyrethrin I

Rotenon

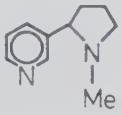
Rotenon ist ein Isoflavanon und wird aus den Wurzeln von Derris-, Lonchocarpus- und Theophrosiaarten gewonnen. Der Wirkmechanismus besteht in der Hemmung der $NADH_2$-Oxidase der mitochondrialen Atmungskette, so daß die Sauerstoffaufnahme verhindert wird. Rotenon wird auch als Fischgift verwendet.
Für Warmblüter ist es ungefährlich (bei Injektion jedoch hochtoxisch).



Rotenon

Nicotin

Das Nicotin ist ein Alkaloid. Es kommt in Nicotiana-Arten vor, aber auch in anderen Pflanzen, wie Asclepias syriaca, Atropa belladonna, Equisetum arvense. Es wirkt als Nervengift und als Fraßgift. Wirkorte sind die Synapsen, die Motorik der Muskulatur wird gehemmt. Nicotin wirkt auch auf Warmblüter stark toxisch.



Ryania

In Südamerika wird aus den Wurzeln und Stengeln von Ryania speciosa ein Insektizid hergestellt. Der Wirkstoff ist ein polycyclisches Alkaloid, das Ryanodin, mit der Summenformel $C_{25}H_{35}O_9N$. Die Struktur des Moleküls ist noch nicht völlig aufgeklärt. Es handelt sich um ein Kontakt- und Fraßgift, das seine Wirkung wahrscheinlich durch Hemmung der kontraktilen Prozesse in den Muskeln entfaltet, so daß Lähmung eintritt. Für Säuger ist Ryania relativ ungiftig.

2.2. Resistenz

2.2.1. Ursachen für das Auftreten von Resistenz

Zunächst stellt sich die Frage, warum ein Insekt überhaupt gegen ein synthetisches Gift resistent werden kann, auf das es doch biologisch nicht vorbereitet sein kann. Jede Pflanze, die es anfliegt, um davon zu fressen oder Eier daran abzulegen, ist eine kleine chemische Fabrik. Pflanzen stellen ja nicht nur die unbedingt lebenswichtigen Substanzen wie Proteine, Kohlehydrate, Vitamine und alle für den Stoffwechsel erforderlichen Enzyme her, sondern synthetisieren auch im sogenannten Sekundärstoffwechsel Substanzen wie Terpenoide, Flavonoide, Alkaloide und Coumarine. Diese Komponenten, die vom Menschen vielfach zu medizinischen oder kosmetischen Zwecken genutzt werden, dienen vielen Pflanzen als Abwehrstoffe gegen Insektenbefall, und sie haben zum Teil ausgeprägte Giftwirkungen. Ein phytophages Insekt muß also zumindest die Abwehrstoffe der eigenen Futterpflanze entgiften können, sonst würde es nicht überleben.
Eine wichtige Rolle bei der Entgiftung solcher Naturstoffe (einschließlich Pyrethrin, Rotenon und Nikotin) spielen die sog. Mixed-Function-Oxidasen (MFO) (Brattsten et al., 1977). Sie wandeln lipophile Substanzen in stärker polare um, so daß diese leichter ausgeschieden werden können. Das mikrosomale MFO-System (mit dem terminalen Enzym Cytochrom P-450) ist dabei sehr flexibel in seinen Substratansprüchen und arbeitet z.B. mit Hydroxylierungen, Epoxidierungen, Dealkylierung und Thioether-Oxidation (Ullrich, 1972). Diese Flexibilität macht es als Resistenzfaktor äußerst gefährlich. Möglicherweise spielt es auch bei den neuerdings aufgetretenen Resistenzen gegenüber Juvenilhormon-Analogen eine Rolle (Oppenoorth, 1976). Zwei weitere Enzymsysteme übernehmen ebenfalls Aufgaben der Detoxifizierung: die Esterasen und die Glutathion-S-Transferasen. Wie unter Punkt 2.2.2. aufgeführt werden wird, sind die genannten Enzyme auch für den Abbau der synthetischen Insektizide verantwortlich.

Ein Schädling kann auf verschiedenen Wegen Resistenz erwerben:

- durch verminderte Aufnahme des Giftes (durch Verhaltensänderung)
- durch vermehrte Entgiftung (durch schnellere Produktion von abbauenden Enzymen oder durch Produktion von modifizierten, effizienteren Enzymen, die aufgrund einer Genmutation hergestellt werden)
- durch vermehrte Ablagerung der Gifte in bestimmten Geweben oder gesteigerte Ausscheidung
- durch reduziertes Eindringen des Giftes oder reduzierten Transport zum Ort der Wirkung
- durch Minderung der Wirksamkeit des Giftes aufgrund von Änderungen am Wirkort (durch Genmutation).

Am häufigsten findet man die durch genetische Varianten entwickelten Resistenzen.

Nach Forgash (1984) kann man drei Gruppen von Faktoren unterscheiden, die für die Resistenzbildung ausschlaggebend sind: genetische, biologische und anwendungsbedingte Faktoren.

1. Genetische Faktoren: es muß ein Genkomplex vorhanden sein, der die Expression von Enzymen ermöglicht, die ein eindringendes Gift unschädlich machen können. Die Anzahl der Individuen mit solchen Anlagen innerhalb einer Population ist ein weiterer Faktor. Außerdem ist von Bedeutung, ob der Vererbungsgang dieses Gens dominant oder rezessiv ist, und ob es mit Genen, die zur Fitness des Insekts beitragen, gekoppelt ist.
2. Biologische Faktoren: eine Art mit mehreren Generationen pro Jahr und großer Anzahl von Nachkommen kann Resistenz schneller erwerben als eine Art mit nur einer Generation pro Jahr und geringer Nachkommenschaft. Georghiou (1980) gibt eine Zahl von 10-15 Generationen an, die verschiedene bodenbewohnende Schädlinge benötigen, um gegen Dieldrin resistent zuwerden.
3. Anwendungsbedingte Faktoren: die Art und Weise der Pestizid-Applikation kann ausschlaggebend sein. Resistenz begünstigende Bedingungen sind gegeben bei

- Verwendung von langsam abbaubaren Stoffen, die also anhaltend auf eine Population einwirken, bzw. von Formulierungen, die eine langsame und langanhaltende Abgabe des Giftes bewirken
- bei Anwendungen schon zu Zeitpunkten niedriger Populationsdichte
- bei besonders gründlicher Anwendung, die einen hohen Prozentsatz der Population erreicht
- bei großflächiger Ausbringung des Pestizids
- bei wiederholter Anwendung, so daß jede Generation selektiert wird.

Durch diese Praktiken werden gerade solche Individuen gefördert, die die genetische Kapazität zur Bildung eines modifizierten Enzyms besitzen, das ein Pestizid besser abbaut oder Veränderungen im Organismus hervorruft, so daß das Gift nicht mit dem Angriffspunkt in Wechselwirkung treten kann. So gelangen überwiegend resistente Individuen zur Fortpflanzung und gewinnen allmählich die Überzahl. - Ein Paradebeispiel für Darwins "struggle for life", wo der besser Angepaßte ausgelesen wird und überlebt.
In zunehmendem Maße wird auch das Auftreten von Multiresistenzen beobachtet. Dieser Vorgang wird durch aufeinanderfolgende Verwendung von Insektiziden mit ähnlicher Struktur oder auch ähnlicher Wirkungsweise gefördert. So gibt es Zusammenhänge zwischen DDT- und Pyrethroid-Resistenz bei der Hausfliege (Musca domestica), und Resistenz gegenüber Organophosphaten zieht oft Unempfindlichkeit gegenüber Carbamaten nach sich (Metcalf, 1980).

2.2.2. Stand der Resistenz bis 1980

Im folgenden sollen einige Beispiele von Resistenzauftreten angeführt werden:

- Die Hopfenblattlaus (Phorodon humuli) ist in den meisten europäischen Ländern resistent gegen mehrere Insektizide. Sogar das hochwirksame Pyrethroid Deltamethrin muß

u.U. doppelt dosiert werden, um eine Kontrolle zu erreichen. Von Lewis und Madge 1984 durchgeführte Untersuchungen zeigen eine erhöhte Esterase-Aktivität bei resistenten Stämmen.

- Bei der Pfirsichblattlaus (Myzus persicae) ist das Auftreten von Resistenz gegenüber verschiedenen phosphororganischen Mitteln und Carbamaten und die damit verbundene Erhöhung der Carboxylesterase-Aktivität mehrfach dokumentiert (Devonshire, 1975, Takada, 1979). Besonders in Großbritannien findet man eine weite Verbreitung von resistenten Pfirsichblattläusen. Bei einer Sammlung von 196 Stichproben stellten sich 76 % davon als resistent gegen Dimethoat heraus (Sawicki et al., 1978).

- Die Stubenfliege (Musca domestica) hat Resistenz gegen fast alle existierenden Insektizide entwickelt, darunter DDT, phosphororganische Verbindungen (Devonshire, 1975) und Pyrethroide (Farnham, 1973). Hier wurde eine Unempfindlichkeit des Enzyms Acetylcholinesterase gegen angreifende Gifte sowie eine erhöhte Glutathion-S-Transferase-Aktivität festgestellt (Oppenoorth et al., 1977).

- Der Kartoffelkäfer (Leptinotarsa decemlineata) ist auf Long Island, New York, zu einer fast unbekämpfbaren Plage geworden. Er ist unempfindlich gegen arsenhaltige Mittel, chlorierte Kohlenwasserstoffe, Organophosphate und Carbamate und sogar bis zu einem gewissen Grad gegen die synthetischen Pyrethroide (Forgash, 1981).

- Vom Baumwollschädling Spodoptera littoralis wird aus Ägypten Ähnliches berichtet. Der Schmetterling ist dort inzwischen gegen 19 verschiedene Insektizide resistent, darunter verschiedene Chlorkohlenwasserstoffe, Organophosphate, Carbamate und das wachstumshemmende Präparat Diflubenzuron. Man befürchtet, daß auch die synth. Pyrethroide in 2 bis 4 Jahren dort unwirksam sein werden (Metcalf, 1980).

Diese Aufstellung von Resistenzvorkommen könnte noch um etliches verlängert werden. Nach Forgash (1984) waren bis zum Jahre 1980 428 medizinisch bzw. landwirtschaftlich relevante Arten gegen ein oder mehrere Pestizide resistent. Einen Überblick über die Entwicklung im Zeitraum 1967 bis 1980 gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Resistenzaufkommen bis 1980; leicht abgeändert nach A.J. Forgash (1984), * prozentuale Zunahme zwischen d. angegebenen Jahren in Klammern

	Anzahl der resistenten Spezies		
Pestizid-Typ	1967	1975	1980
Cyclodiene	140	225 (61) *	269 (20)
DDT	98	203 (107)	229 (13)
Organophosphate	54	147 (172)	200 (36)
Carbamate	3	36 (1.100)	51 (42)
Pyrethroide	3	6 (100)	22 (267)
Räuchermittel	3	9 (200)	17 (89)
Andere	11	19 (73)	41 (116)
Summe	312	645 (107)	829 (29)
Zahl der (vet.)-med. u. landwirtsch. bedeutsamen, resist. Spezies	224	364 (63)	428 (18)

2.2.3. Mögliche Gegenmaßnahmen

Die genetischen und biologischen Bedingungen, die uns ein zu bekämpfendes Schadinsekt stellt, können wir nicht so leicht ändern. Dagegen ist unser Umgang mit den Bekämpfungsmitteln sehr wohl variabel. Man kann durch besonnenen Umgang mit Insektiziden der Resistenzbildung zumindest eine Zeitlang vorbeugen. Nachfolgend sollen verschiedene Möglichkeiten beschrieben werden, die "Lebensdauer" von Pestiziden zu verlängern.

Kombination mit Synergisten
Die Kombination eines unwirksam gewordenen Mittels mit einem Synergisten kann die Wirksamkeit wieder herstellen. Synergisten hemmen die Aktivität der detoxifizierenden Enzyme. So geschehen 1982 in New York, wo eine Kartoffelkäferpopulation eine 500-fache Toleranz gegenüber Fenvalerat zeigte. Mit Zusatz von Piperonylbutoxid, einem Oxidaseinhibitor, konnte wieder eine wirksame Bekämpfung erreicht werden (Forgash, 1984).

Abwechselnder Gebrauch mehrerer Insektizide
Durch diese Taktik kann zumindest ein zeitlicher Aufschub bis zum Auftreten von Resistenz gewonnen werden. Voraussetzung für den Erfolg solcher Maßnahmen ist, daß Insektizide verwendet werden, zu deren Entgiftung ein Insekt unterschiedliche Enzymsysteme, also auch verschiedene Genkomplexe in sich vereinigen müßte (Asquith, 1961).

Gebrauch von Insektizidgemischen
Dies ist eine weitere Methode, einen Zeitaufschub zu gewinnen. Möglicherweise kann ein Resistenzauftreten auf diese Art völlig verhindert werden (Pimentel und Bellotti, 1976). Eine Computerstudie von Knipling und Klassen (1984) ergibt, daß eine Mischung von 2 verschiedenen Präparaten, wobei jedes nur mit der Hälfte der vorgeschriebenen Konzentration zugesetzt wird, die Lebensdauer der Insektizide etwa verdoppelt. Dabei müssen wieder dieselben Voraussetzungen wie beim abwechselnden Gebrauch verschiedener Insektizide eingehalten werden.

2.3. Nebenwirkungen

2.3.1. Boden, Bodenbewohner, nützliche Arthropoden und Pflanzen

Die Abbaubarkeit von Insektiziden ist von vielen äußeren Parametern abhängig und daher schwer abzuschätzen. Die Zusammensetzung eines Bodens spielt eine wichtige Rolle, wobei Humus und Tonminerale gute Filtereigenschaften besitzen und daher die Persistenz von Rückständen erhöhen. Weiter sind Exposition (z.B. Hanglage) und klimatische Faktoren wie regelmäßiger Feucht-Trocken-Wechsel relevant. Auch die physikalisch-chemischen Eigenschaften des verwendeten Pestizids (Dampfdruck, Wasserlöslichkeit oder Lipophilie, Molekulargewicht, Neigung zu Adsorption an Bodenkolloiden) sind von Bedeutung. Man spricht von einer substanzspezifischen Rekalzitranz, d.h. Widerstandskraft gegenüber physikalischem und biochemischem Abbau. Diese ist besonders groß bei Vorkommen von Strukturmerkmalen wie Etherbrücken, dreifach substituierten N-Atomen, vierfach konjugierten C-Doppelbindungen, kondensierten Phenylringen und ein- oder mehrfach substituierten Aromaten (Ottow, 1982). Pestizide können ausgewaschen, vom Wind verdriftet oder durch Sonnenlicht photooxidiert werden. Die Persistenz von Pestiziden hängt auch von der Häufigkeit der Anwendung und von Art und Ausmaß gleichzeitig ausgebrachter, anderer Pflanzenschutzmittel ab.
Nicht zuletzt ist der Einfluß des Pestizids auf die Bodenmikroflora (Bakterien, Pilze), die maßgeblich am Abbau beteiligt ist, von Bedeutung. Im allgemeinen ist der mikrobielle Abbau umso schwieriger, je größer das Molekül ist, je schlechter die Wasserlöslichkeit und je größer der Anteil an stabilen Bindungen und Substituenten ist.
Die Einflüsse auf Bodentiere sind sehr unterschiedlich. DDT bewirkt eine Zunahme von Nematoden (Fadenwürmer) und saprophagen Milben, während Populationen von Raubmilben geschädigt werden. Collembolen (Springschwänze) und Regenwürmer werden kaum beeinträchtigt, treten zum Teil sogar vermehrt auf. Chlordan ist dagegen sehr toxisch für Collembolen und Regen-

würmer. Organophosphate zeigen im allgemeinen nicht so langanhaltende Auswirkungen wie Chlorkohlenwasserstoffe. Parathion wirkt auf viele Myriopoden (Tausendfüßler) toxisch. Auch Diazinon wird als sehr schädlich für Bodenarthropoden beschrieben. Unter den Carbamaten wirkt Carbaryl besonders toxisch, es schädigt Collembolen, Myriopoden und Regenwürmer. Aldicarb mindert insbesondere die Zahl der Raubmilben.

Schnecken sind recht widerstandsfähig gegenüber Insektiziden, bei ihnen tritt jedoch Akkumulation der lange persistierenden chlorierten Kohlenwasserstoffe und Organo-Phosphate auf. Besonders bei Nacktschnecken werden Mengen bis zu dreistelligen ppm-Werten angereichert. Man findet auch bei Regenwürmern Rückstände von Chlorkohlenwasserstoffen, meist ein- bis zweistellige ppm-Werte, was eine bis zu neunfache Anreicherung gegenüber dem Bodengehalt bedeutet (nach Edwards und Thompson, 1973).

Insektizide haben meist ein so breites Wirkungsspektrum, daß sie keinen Unterschied zwischen Nützlingen und Schädlingen machen. Zwar können auch Nutzinsekten Resistenz entwickeln, jedoch sind die Überlebenden nach einer Insektizidbehandlung weiterhin gefährdet, da sie als Nahrung nur gifthaltige Insekten vorfinden oder sogar an Hunger sterben, wenn alle Beutetiere vernichtet wurden; oder sie wandern auf der Suche nach Futter ab. Das insektizidbehandelte Gebiet bleibt dann ohne biologischen Puffer zurück, und Schadinsekten, die das Gebiet rekolonisieren, können sich - unverfolgt von natürlichen Feinden - noch besser ausbreiten als zuvor. Es gibt auch Fälle, wo ein natürlicher Feind gegenüber einem gegebenen Insektizid eine niedrigere LD_{50} (letale Dosis für 50 % der Versuchstiere) aufweist als das Schadinsekt (Ware, 1980).

Bodenbewohnende Insekten werden zum Teil stark von Pestiziden geschädigt. So kann DDT Käferpopulationen um 70 bis 90 % dezimieren. Die räuberischen Carabiden, die man zu den Nutzinsekten zählt, da sie Blattläuse und Schädlingslarven vertilgen, sind sehr empfindlich gegenüber BHC. Staphyliniden - ebenfalls Nützlinge - reagieren darauf weniger sensibel (erst bei 30 kg/ha).

Unter den Organophosphaten ist Parathion für Carabiden und Coccinelliden, Malathion für Coccinelliden besonders toxisch. Unter den Carbamaten schädigt Carbaryl viele Nutzarthropoden (Croft und Brown, 1975).

Bei manchen Arten findet man eine größere Toleranz gegenüber den ökologisch äußerst bedenklichen, chlorierten Kohlenwasserstoffen als gegenüber den schneller abbaubaren synthetischen Pyrethroiden oder Carbamaten (Tewari und Moorthy, 1985). Dies gilt etwa für Bienen, für die Chlorkohlenwasserstoffe relativ unschädlich sind, während Organophosphate und Carbamate (z.B. Malathion und Carbaryl) zu zahlreichen Verlusten von Bienenvölkern führten (Ware, 1980). Die synthetischen Pyrethroide (z.B. Fenvalerat) schädigen mehreren Untersuchungen zufolge die Raubmilben, natürliche Feinde von phytophagen Milben, besonders stark, so daß es im Apfel- und Pfirsichanbau wiederholt zu Milbenkalamitäten kam, nachdem Schädlinge wie Apfelwickler oder Pfirsichblattfloh mit Fenvalerat bekämpft worden waren (Riedl und Hoying, 1980).

Unter den räuberischen Spinnen werden besonders solche geschädigt, die ihre Beute aktiv jagen (wie Wolfsspinnen), weniger die netzbauenden Arten (Bostanian et al., 1984). Sekundärvergiftungen durch Aufnahme von kontaminierten Beutetieren spielen hier vermutlich eine größere Rolle. Heptachlor und Carbaryl wirken nachgewiesenermaßen schädigend auf Spinnen (Brown, 1978).

Bei Pflanzen können Insektizide neben der Schutzwirkung vor Schädlingen auch andere Effekte hervorrufen.
So gibt es eine Untersuchung, die über vermehrten Fruchtansatz bei Äpfeln nach Behandlung mit γ-HCH berichtet (Church und Williams, 1983). Auch Einflüsse auf die Blattgröße bei Apfelbäumen nach Pestizidapplikationen sind bekannt (Church et al. 1984).
Wood und Payne (1984) untersuchten Auswirkungen auf die Photosynthese. In einem Test mit 11 Insektiziden aus verschiedenen Stoffgruppen (z.B. Monocrotophos, Carbaryl, Fenvalerat), die

auf Pecannußsprößlinge gesprüht wurden, zeigte sich stets eine Verminderung der Photosynthese-Leistung, die sich nach 7 bis 14 Tagen wieder normalisierte. Petroleumöl stellte sich als besonders Photosynthese-hemmend heraus, hier fand man auch nach 14 Tagen eine um 20 % niedrigere Photosynthese-Leistung.

δ-HCH und Isazophos können die Keimung von Hirsesamen beeinträchtigen, wenn sie bei der Aussaat in die Saatrillen gesprüht werden, wie es zur Bekämpfung von Drahtwürmern in Australien praktiziert wird (Forrester, 1984).

Anreicherungen von Pestiziden kommen auch in Pflanzen vor. Roughan und Roughan (1984) berichten von erhöhten Bromid-Gehalten in Salatpflanzen, die auf Methylbromid-sterilisierter Erde gezogen wurden. Während in Pflanzen auf unbehandelter Erde Rückstände von ca. 10 mg/kg vorkamen, erreichten Pflanzen auf behandelten Böden bis über 2000 mg/kg Bromid-Gehalt. Auch Insektizide wie Dieldrin, Carbofuran und Permethrin findet man in Pflanzen wieder. Khan et al. (1984) stellen darüber hinaus fest, daß beträchtliche Anteile solcher Rückstände mit den üblichen Untersuchungsmethoden gar nicht registriert werden, weil sie in gebundener Form gespeichert werden. In Radieschen fanden sie nach Extraktion immerhin 24 % Dieldrin, 29 % Permethrin und 93 % Carbofuran gebunden vor.

2.3.2. Nebenwirkungen auf Gewässer, Fische und Vögel

Fische sind sowohl durch die hohe akute Toxizität vieler Insektizide als auch durch Sekundärvergiftungen über vergiftete Wasserarthropoden gefährdet. In den USA sind zahlreiche Fälle bekannt, wo nach Sprühmaßnahmen über Wäldern in den hindurchfließenden Bächen und Flüssen ein Großteil der Insektenlarven und Krebstiere vernichtet wurde und Fischsterben zu beobachten waren. Auch Phytoplanktonblüten können die Folge sein, wenn Organismen, die vom Plankton leben, dezimiert werden. Algen und Bakterien der Gewässer adsorbieren Insektizide sehr schnell, besonders gründlich die schlecht wasserlöslichen Chlorkohlen-

wasserstoffe, und sie konzentrieren sie 100- bis 3000-fach. Sie stehen damit am Anfang einer Akkumulationsreihe, die bis zum Menschen verfolgt werden kann (nach Brown, 1978).

Chlorkohlenwasserstoffe wirken hochtoxisch auf Fische. Die LC_{50} (letale Konzentration in 1 l Wasser für 50 % der Versuchstiere) wird bei ihnen in ppb angegeben. Die Salmoniden (dazu gehören Lachse und Forellen) sind besonders empfindlich. Von dem gefährlichsten Gift, Endrin, genügen 0,1 bis 0,5 ppb im Wasser, um sie innerhalb von vier Tagen zu töten. Auch Toxaphen (2 bis 9 ppb), Dieldrin (6 bis 11 ppb) und DDT (1 bis 18 ppb) wirken hochtoxisch (Post und Schröder, 1971). Durch Endosulfan, das ähnlich wirksam ist wie Endrin, starben im Jahr 1967 etwa 40 Millionen Fische im Rhein (Binder, 1969). Chlorkohlenwasserstoffe werden von Fischen sehr schnell über die Kiemen aufgenommen und in den Körpergeweben akkumuliert. 10.000- bis 100.000-fache Anreicherungen sind dokumentiert. Die höchsten Konzentrationen findet man in großen, fettgewebereichen Fischen (Cope, 1971).
Die Organophosphate sind im allgemeinen weniger gefährlich. Eine Ausnahme ist Azinphosmethyl, das mit einer LC_{50} von 4 ppb für Salmoniden ebenfalls äußerst toxisch ist.
Carbamate werden als relativ ungefährlich beschrieben.
Früher verwendete man das Rotenon als Fischgift, das jedoch nicht so stark wirkt wie etwa Toxaphen.

Die von vielen als Delikatesse geschätzten Muscheln und Krebse reagieren zum Teil sehr empfindlich auf Pestizide. Bei Lindan liegt die LC_{50} für verschiedene Shrimpsarten bei 0,4 ppb. Austern sind schon bei geringen DDT-Gehalten des Wassers im Wachstum eingeschränkt, 100 ppb töten sie nach vier Wochen. Sie können DDT in beachtlichem Maße, bis zu 70.000-fach, konzentrieren (nach Brown, 1978).

Vögel gehören zu den am meisten in Mitleidenschaft gezogenen Tierklassen. Trotz verschiedener Ernährungsweisen sind alle Vogelgruppen betroffen.

Zunächst sind es solche, die sich von Insekten, Würmern und anderen Kleintieren ernähren, die subletale Dosen von Insektiziden im Gewebe gespeichert haben können und diese "Mitgift" an die Vögel weitergeben. Besonders Schnecken können ja beachtliche Mengen von Insektiziden akkumulieren (s. 2.3.1.). Vor allem werden aber von solchen Vögeln nach Bekämpfungsmaßnahmen viele tote und kontaminierte Insekten aufgenommen.

Auch körnerfressende Vögel bleiben nicht verschont. Zum einen, weil einige Insektizide direkt toxisch für Vögel sind, so z.B. Dieldrin (Scott et al., 1959). Von Dieldrin wird zudem berichtet, daß es die natürlichen Duckreflexe mancher Vögel außer Funktion setzt, so daß sie leicht von Greifvögeln erbeutet werden (Kreitzer u. Heinz, 1974). Parathion verfügt ebenfalls über eine hohe akute Toxizität für Vögel, während Malathion als relativ ungiftig beschrieben wird (Brown, 1978). DDT und seine Abbauprodukte werden zum größten Teil in den Fettgeweben, in geringerem Maße im Gehirn (1/10 bis 1/40 des Fettgewebegehalts) abgelagert. Die Empfindlichkeit ist artspezifisch verschieden. Fasane sind mit einer LC_{50} von 15 ppm DDT + DDD im Gehirn recht sensibel, beim Haussperling liegt dieser Wert bei 43 ppm. Eine Gefahr besteht auch darin, daß im Fettgewebe relativ hohe Konzentrationen toleriert werden: LC_{50} beim Fasan 311 ppm, beim Haussperling 415 ppm (Brown, 1978). In Hungerperioden oder bei erhöhter Aktivität werden die Fettreserven abgebaut, das DDT in den Körper ausgeschüttet und die Vögel sterben. Außerdem gibt es viele Pestizide, die als Granulat formuliert sind und deshalb versehentlich von Körnerfressern aufgenommen werden. Eine Untersuchung von Balcomb et al. (1984) zeigt, daß von einigen Carbamaten und Organophosphaten bereits ein einziges Körnchen genügt, um einen Haussperling zu töten, so z.B. bei dem Carbamat "Temik" (= Aldicarb) und bei dem Organophosphat "Dasanit" (= Fensulfothion). Sie testeten 16 Insektizide, wovon 6 beim Verzehr von einem Korn zum Tode führten, alle übrigen mit zwei Ausnahmen waren bei 5 bis 20 Korn tödlich.

Vögel, die sich aus Gewässern ernähren, werden ebenfalls Opfer von Insektiziden. Hier bekämpft man Stechmückenlarven oder auch

unerwünschte Fische, um danach "Anglerfische" einzusetzen. So benutzte man in den USA Toxaphen als Fischgift, was zu sekundären Vergiftungen bei Pelikanen und Reihern geführt hat. Außerdem werden bei Sprüheinsätzen aus der Luft die Zerstäuber über Gewässern oft nicht abgeschaltet, und Pestizide gelangen in Flüsse und Teiche. Die Belastbarkeit ist von Art zu Art verschieden. Beim Braunen Pelikan genügt ein DDE-Gehalt in den Eiern von 3 µg/g Frischgewicht, um die Fortpflanzung zu beeinträchtigen (Blus, 1982). Beim Schneereiher erkennt man bei einem DDE-Gehalt von durchschnittlich 7,5 ppm eine deutliche Minderung des Bruterfolgs (Findholt, 1984).

Auch in Hühnereiern findet man Chlorkohlenwasserstoffe. Sie können sowohl mit der Nahrung aufgenommen werden (z.B. in Fischmehl) als auch durch ständigen Kontakt mit Gitterrosten, die zwecks Lauskontrolle behandelt werden (Ware, 1980).

Die letzte betroffene Gruppe sind die Greifvögel. Da sie Tiere erbeuten, die noch höher in der Akkumulationsreihe stehen, nehmen sie noch höhere Dosen zu sich. Zudem sind sie relativ empfindlich, was Belastung mit Insektiziden angeht. 5 bis 20 ppm DDE bewirken eine Verdünnung ihrer Eischale um 20 %, was als kritischer Wert für den Erfolg einer Brut gilt (Gonzales et al., 1984).

2.3.3. Nebenwirkungen auf Säugetiere und den Menschen

Die am meisten durch Pestizide gefährdeten Säuger sind wohl die Fledermäuse. Die LC_{50} von DDT beträgt bei der Großen Braunen Fledermaus nur 30 mg/kg im Vergleich zu 400 mg/kg bei Labormäusen (Luckens und Davis, 1964). DDT-Applikationen zur Bekämpfung der Ulmenkrankheit in New Yersey, USA, verursachten Mortalitäten bei der Roten Fledermaus und bei Grauen Eichhörnchen (Benton, 1951). Auch Dieldrin und Toxaphen sind gefährlich. Ab ca. 5 ppm Dieldrin-Gehalt des Gehirns treten bei der Grauen Fledermaus Todesfälle auf (Clark et al., 1978). Die Cyclodiene besitzen zum Teil eine höhere akute Toxizität als

DDT. So wird von schweren Dezimierungen bei Eichhörnchen, Maulwürfen, Spitz- und Wühlmäusen nach Dieldrinanwendungen und von Fuchssterben nach Heptachlorgebrauch berichtet (Brown, 1978).
Unter den Organophosphaten wirkt Parathion am toxischsten, unter den Carbamaten Aminocarb, doch gibt es über diese beiden Gruppen relativ wenige Angaben über Folgen bei Wildtieren.

Anreicherungen von Chlorkohlenwasserstoffen bei Haustieren sind wohlbekannt. Da sie lipidlöslich sind, findet man chlorierte Kohlenwasserstoffe besonders im Fettgewebe etwa von Rindern und in der Milch wieder (Ware, 1980). Aulerich et al. (1971) berichten von Nerzzuchten, wo bis zu 80 % der Jungen starben, weil die Muttertiere teilweise mit Fisch aus dem Lake Michigan gefüttert worden waren, der 10 ppm DDT enthielt - allerdings auch ebensoviel PCB.

Mutagene (Chromosomenschäden, Entwicklung von Tumoren) und teratogene Effekte (erhöhte Embryosterblichkeit, Mißbildungen, vermindertes Wachstum der Nachkommen) konnten in zahlreichen Studien mit Mäusen, Ratten, Hamstern, Schweinen und anderen Versuchstieren sowohl bei Injektion von Chlorkohlenwasserstoffen als auch bei Organophosphaten und Carbamaten nachgewiesen werden. Das Auftreten von Defekten hängt dabei von der Dosis, dem Zeitpunkt und der Dauer der Verabreichung ab (s. Kapitel "Toxikologie der Pestizide" bei Schmidt, 1986). Für DDT gibt es außerdem Hinweise auf immunosuppressorische Wirkungen (Radhakrishnan et al., 1972).

Die World Health Organization (WHO) der Vereinten Nationen machte 1973 bekannt, daß pro Jahr mehr als 5.000 Menschen beim Umgang mit Pestiziden tödliche Vergiftungen erleiden. In einer Klassifikation von Pestiziden nach ihrer Gefährlichkeit für den Menschen (WHO, 1975) in die vier Gruppen "extrem gefährlich", "sehr gefährlich", "mäßig gefährlich" und "weniger gefährlich", findet man in der ersten Gruppe u.a. Endrin, Parathion und Aldicarb. DDT wird in die Gruppe "mäßig gefährlich" eingestuft.

Überall auf der Welt findet man Chlorkohlenwasserstoff in der menschlichen Muttermilch. Curley et al., (1969) identifizierten DDT und seine Metaboliten, α-, ß- und γ-HCH, Heptachlorepoxid und Dieldrin in verschiedenen Organen von fehlgeborenen Babies. Siddiqui et al. (1981) fanden Ähnliches bei indischen Frauen, wobei sie in der Milch die fünffache Konzentration HCH-Isomere (0,11 ppm) und die sechsfache Konzentration DDT (0,12 ppm) im Vergleich zum mütterlichen Blut feststellten. Sie berechneten die mittlere Dosis, die ein Baby täglich zu sich nehmen würde, auf 92 µg HCH und 109 µg DDT; Werte, die etwa um ein Dreifaches über dem von der WHO als tolerierbar bezeichneten Wert von 10 µg/kg/Tag liegen.

Es gibt wenige Studien oder gar Nachweise von carcinogenen, mutagenen oder teratogenen Effekten von Pestiziden beim Menschen. Eine Untersuchung von Jager (1970) über Menschen, die lange Zeit verschiedenen Chlorkohlenwasserstoffen ausgesetzt waren, ergab keine krankhaften Veränderungen. Czeizel et al. (1973) stellten fest, daß Malathion unter mehreren Organophosphaten nach akuten Vergiftungen am häufigsten Chromosomenaberrationen auslöst. Barnes (1976) betont, daß Teratogene wahrscheinlich nur bei Kontakt in den ersten Wochen der Schwangerschaft Wirkungen zeigen. Jedlicka et al. (1958) berichten von einem Fall, wo zwei Cousins im Abstand von neun Monaten an Leukämie starben, nachdem sie acht Monate vor dem ersten Todesfall gemeinsam bei einer landwirtschaftlichen Verteilerstation gearbeitet hatten. Sie luden Säcke mit dem Insektizid "gammexane" (= HCH) ab. Carson behauptet in ihrem Buch "Der stumme Frühling" (1965), daß die Zahl der Leukämie-Erkrankungen seit der Einführung der synthetischen Insektizide ständig gestiegen sei. Sie führt die Aussage des Leiters der Hämatologie-Abteilung einer Mayo-Klinik an, wonach es Fälle von Knochenmarkschwund, aplastischer Anämie, Leukämie und anderen Blutkrankheiten gibt, die auf Einwirkung von DDT, HCH, Chlordan, Benzol oder Petroleumdestillaten zurückzuführen sind.

2.4. Alternative zur Verwendung chemischer Pestizide - integrierte Schädlingsbekämpfung

Smith (1976) faßt die Taktiken des integrierten Pflanzenschutzes folgendermaßen zusammen:

1) Kulturmaßnahmen
2) Verwendung von resistenten Pflanzen
3) Gebrauch von Räubern, Parasiten und Schädlingspathogenen
4) besonnener Gebrauch von Pestiziden.

Im folgenden sollen die genannten Punkte näher erläutert werden.

2.4.1. Kulturmaßnahmen und resistente Pflanzen

Nutzpflanzenkulturen können durch Maßnahmen wie Zwischen- oder Unterpflanzungen, Streifenernte, Fangpflanzungen, bestimmte Pflanzabstände, Fruchtwechsel und Variation des Aussaat- bzw. Pflanzdatums vor Schädlingsbefall geschützt werden.

Grosse-Wichtrup (1984) untersuchte die Auswirkungen einer Klee-Untersaat beim Anbau von Winterweizen und stellte fest, daß in Jahren mit großen Blattlauspopulationen in den kleeuntersäten Feldern der Befall auf etwa 50 % reduziert war gegenüber herbizidbehandelten Feldern. Weiter wird darauf hingewiesen, daß in den Kleeabschnitten ca. 50 % mehr Staphyliniden vorkamen und auch die Anzahl der hymenopteren Blattlausparasiten größer war.

Der Zeitpunkt der Aussaat von Winterweizen kann in Gebieten mit milden Wintern von Bedeutung sein, wie Dedryver und Tanguy (1984) berichten. In einem fünf Jahre dauernden Versuch verglichen sie das Blattlausaufkommen in frühzeitig (Oktober) und spät (November) gesäten Weizenparzellen. Früh gesäte Felder wurden regelmäßig noch vor dem Winter von Blattläusen besiedelt und erreichten im Frühjahr größere Befallsdichten als Spätaussaaten.

Hansen (1985) stellte fest, daß Stickstoffdüngung die Vermehrungsrate von Getreideblattläusen erhöht. Untersuchungen des Phloemsaftes ergaben ein verändertes Aminosäureverhältnis.

Die auf hohe Erträge gezüchteten Kulturpflanzen sind oft anfälliger gegenüber Schädlingsbefall als verwandte Wildarten. Daher versucht man durch Kreuzungen mit den widerstandsfähigen Wildarten, resistente Kultursorten zu erhalten. Auch wenn die erzielte Resistenz nicht hundertprozentig ist, erreicht man deutliche Schadensminderungen (Maxwell et al., 1972). Resistenz kann auf der Produktion von "schlecht schmeckenden", entwicklungshemmenden oder abschreckenden Pflanzeninhaltsstoffen beruhen oder auch auf der Ausbildung morphologischer Besonderheiten wie Haaren.
So fand Gibson (1971) bei verschiedenen Solanum-Arten Drüsenhaare, die ein - vermutlich Phenole enthaltendes - Sekret abgeben, das an der Luft gummiartig erstarrt und Blattläuse festklebt. Kreuzungen mit der Kartoffel, Solanum tuberosum, führten zu Hybriden, die ebenfalls Drüsenhaare besaßen (Gibson, 1974). Buschbohnen, Phaseolus vulgaris, verfügen über Hakenhaare, an denen Blattläuse und kleine Fliegen aufgespießt werden (Johnson, 1953).

2.4.2. Verwendung von Räubern, Parasiten und Pathogenen

Die Beurteilung, ob ein Organismus als natürlicher Feind eines Schädlings im Pflanzenschutz eingesetzt werden kann, erfordert gründliche Kenntnisse über Biologie und Lebensweise der betreffenden Art. Bei Bekämpfungsmaßnahmen muß der Entwicklungsstand des Schädlings sorgfältig beobachtet werden und der natürliche Feind zum günstigsten Zeitpunkt ausgesetzt werden. Der Zeitpunkt der Freilassung kann entscheidend für den Erfolg der Maßnahme sein. Schon einmaliges Ausbringen eines Nutzorganismus kann sehr effektiv sein. Diese Erfahrung machte man in Kalifornien, wo die Australische Wollschildlaus (Icerya purchasi) in Citrusplantagen ganze Ernten vernichtete und eine ernsthafte Bedrohung für die Citrus-Industrie darstellte.

Knapp zwei Jahre nach Einfuhr des Australischen Marienkäfers (Rodolia cardinalis, 514 Exemplare) war die Schildlaus völlig unter Kontrolle gebracht (Clausen, 1956). Franz (1984) verfaßte eine Zusammenstellung der in Europa erhältlichen Nutzorganismen. In der BRD gibt es bislang Bacillus-thuringiensis-Präparate und die Nützlinge Trichogramma evanescens (Schlupfwespe), die gegen den Maiszünsler eingesetzt wird, Phytoseiulus persimilis (Raubmilbe) gegen die Rote Spinne und Encarsia formosa (Erzwespe), die die Weiße Fliege parasitiert.
Eine Methode, wo der Feind in den eigenen Reihen untergebracht wird, ist das Aussetzen steriler Artgenossen. Meist werden dabei die Männchen einer Art durch Behandlung mit Chemosterilantien oder γ-Strahlung unfruchtbar gemacht und zu geeignetem Zeitpunkt in großer Zahl freigelassen. Diese Methode wurde im Südosten der USA bereits erfolgreich mit der Schraubenwurmfliege (Cochliomyia hominivorax) praktiziert (Franz und Krieg, 1982).

2.4.3. Besonnener Gebrauch von Kontrollagentien

Obwohl es das Ziel der integrierten Schädlingsbekämpfung ist, den Einsatz von Pestiziden zu vermeiden, wird dies nicht immer möglich sein, so daß auch sie in integrierte Programme mit einbezogen werden müssen.
Selektiven Mitteln wäre selbstverständlich der Vorzug zu geben, doch es gibt davon nur wenige. Aber auch unselektive Mittel könnten selektiv gebraucht werden, indem man Dosis, Formulierung, Applikationszeitpunkt und -methode und Auswahl des zu behandelnden Areals den jeweiligen Erfordernissen anpaßt. Im gegenwärtigen System sind die Pestizidhersteller mehr oder weniger gezwungen, breit wirksame Mittel auf den Markt zu bringen. Ursachen dafür sind (nach Smith, 1976):

- hohe Forschungskosten; die Kosten für das Herausbringen eines Produkts liegen heute in der BRD bei ca. 10 Millionen DM (Knauf, Fa. Hoechst, persönl. Mitt., 1985).

- Konkurrenz durch existierende, nichtselektive, billige Pestizide
- mangelndes Interesse der Konsumenten wegen höherer Preise für selektive Mittel
- schwerfällige Registrierungsprozeduren staatlicherseits
- fehlende Kenntnisse über die Biochemie von Pflanzen und Insekten.

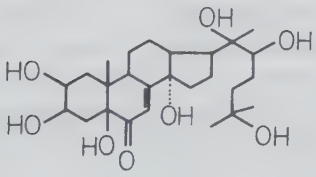
Außerdem wären natürliche, schnell abbaubare Kontrollagentien zu bevorzugen. Dafür in Frage kommen Naturstoffe mit Pheromon-, Hormon- oder Insektizidwirkung. Die Einsatzmöglichkeiten dieser Stoffe sollen im folgenden kurz abgehandelt werden.

Pheromone sind Stoffe, die von Organismen abgesondert werden und der innerartlichen Kommunikation dienen. Dazu gehören die Sexualpheromone, die Alarmpheromone sowie Aggregations- und epideiktische Pheromone, welche die Populationsdichte regulieren (Prokopy, 1981). Die Gruppe der Sexualpheromone ist am besten untersucht. Ausführliche Reviews zu diesem Thema gibt es von Bestmann und Vostrowsky (1982), Law und Regnier (1971), Beroza (1971).

Sexpheromone werden praktisch eingesetzt, um Schadinsekten anzulocken und in Fallen unschädlich zu machen. Sie sind zudem bei der Überwachung von Schädlingsaufkommen sehr nützlich, da durch regelmäßiges Kontrollieren der Fallen der richtige Zeitpunkt für Bekämpfungsmaßnahmen besser abgeschätzt werden kann. Weiter kann die sogenannte Verwirrungstechnik angewandt werden, um die Paarbildung zu stören und so die Vermehrung eines Schädlings einzuschränken.
Alarmpheromone werden produziert, um Artgenossen vor angreifenden Feinden zu warnen. Sie kommen bei sozial oder zumindest gruppenweise lebenden Insekten vor. Bei vielen Blattläusen löst trans-ß-Farnesen, das aus am Hinterleib sitzenden Siphonen abgegeben wird, Flucht- und Abspringreaktionen aus (Nault und Bowers, 1974). Es ist jedoch für Feldeinsätze ungeeignet, da es leicht Umlagerungen erleidet und dann unwirksam ist.

Aggregationspheromone wirken attraktiv und dienen der optimalen Ausnutzung von Nahrungsquellen oder Eiablageorten. Epideiktische Pheromone signalisieren dagegen, daß weiterer Zuzug von Artgenossen unerwünscht ist. Bei manchen Blattläusen scheint Laurinsäure diese Rolle zu übernehmen. Auf damit behandelten Blättern werden keine Junglarven abgesetzt, eine Besiedlung findet nicht statt (Greenway et al., 1978). Epideiktische Pheromone benutzt man im Pflanzenschutz bis jetzt noch nicht.

Hormone verbleiben im Gegensatz zu den Pheromonen im Körper und wirken regulatorisch bei Entwicklungs- und Fortpflanzungsprozessen. Für den praktischen Einsatz interessant sind die Häutungs- und die Juvenilhormone. Ausführliche Information zu diesem Bereich bieten Sláma et al. (1974) und Schmidt (1986). Der Entwicklung von Hormonanaloga wurde in den letzten Jahren zunehmend Aufmerksamkeit gewidmet. Erste Produkte dieser Forschung sind die bereits erwähnten (s. 2.1.1.) Insektizide Diflubenzuron und Methopren.
Für die Einleitung von Häutungsvorgängen sind die Ecdysone verantwortlich, das ∝- und ß-Ecdyson und das 20,26-Dihydroxiecdyson. Sie werden in den Prothorakaldrüsen der Insekten produziert. Es gibt aber auch Phytoecdysone, die von Pflanzen synthetisiert werden. Sie können - zum richtigen Zeitpunkt gefüttert oder injiziert - zusätzliche Häutungen auslösen, die tödlich enden. Als Beispiel sei Polypodin B genannt, das aus dem Farn Polypodium vulgare isoliert wurde (Jizba et al., 1967).

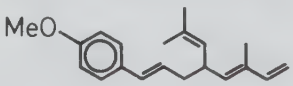


Polypodin B

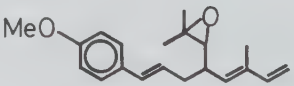
Viele Phytoecdysone zeigen aufgrund ihrer Molekülstruktur (Polyhydroxisteroide) oberflächlich appliziert keine Wirkung.

Trotzdem konnten durch "dipping tests" (Eintauchen von Larvenabdomina in Pflanzenextrakte) zahlreiche, aktive Pflanzen entdeckt werden (Imai et al., 1969). Adulte Insekten könnten mit Ecdysoiden nicht bekämpft werden.

Die Juvenilhormone, I, II und III benannt, werden in den corpora allata der Insekten produziert und sind für Larvalentwicklung, Ovarentwicklung und Diapause erforderlich. Durch Applikation von Juvenilhormon zum richtigen Zeitpunkt kann man die Embryoentwicklung verhindern, die Metamorphose zur Puppe oder Imago kann gestört und stattdessen ein zusätzliches Larvenstadium ausgelöst werden, das später nicht lebensfähig ist. Auch in Pflanzen konnte man einige Juvenoide - meist aliphatische oder monozyklische Sesquiterpene - nachweisen (Sláma, 1969). Sie sind auch bei äußerlicher Applikation wirksam. Bowers und Nishida (1980) fanden im Basilikumöl (Ocimum basilicum) die Juvocimene, welche in ihrer Aktivität das Juvenilhormon I um zwei bis drei Zehnerpotenzen übertreffen.

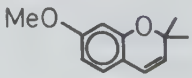


Juvocimen 1

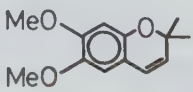


Juvocimen 2

Da sie Larvenstadien kaum beeinträchtigen, sind Juvenoide zur Bekämpfung zahlreicher Schädlinge, die gerade in diesem Stadium großen Schaden anrichten, weniger geeignet.
Anti-Juvenilhormone entdeckten Bowers et al. (1976) im Leberbalsam, Ageratum houstonianum. Diese "Precocene" scheinen besonders aktiv gegenüber hemimetabolen Insekten zu sein. Verabreicht man Larven Precocen, so entwickeln sie sich vorzeitig zu winzigen, unfruchtbaren Imagines. Auf adulte Weibchen angewendet wirkt es sterilisierend. Bei einigen holometabolen Insekten löst es Diapause aus.



Precocen I

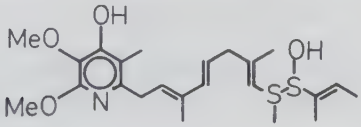


Precocen II

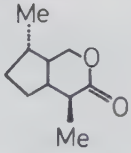
Natürliche Insektizide

Neben den bereits kommerziell genutzten pflanzlichen Insektiziden Pyrethrin, Rotenon, Nicotin und Ryanodin gibt es eine Vielzahl natürlicher Insektizide mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Ursprungs, die bisher nur örtlich in Gebrauch oder im Stadium der versuchsmäßigen Erprobung sind. Hier sollen nur wenige Beispiele genannt werden. Ausführliche Information findet man bei Jacobson und Crosby (1971), Casida (1976), Nakanishi (1980) und Jacobson (1982).

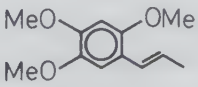
- Piericidin A, aus dem Bakterium, Streptomyces mobaraensis, auch für Säuger sehr toxisch



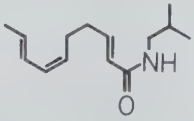
- Iridomyrmecin, aus den Analdrüsen der Ameise, Iridomyrmex humilis, nur bei Injektion wirksam



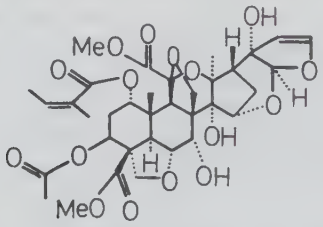
- ß-Asaron, im ätherischen Öl von Kalmus-Rhizomen (Acorus calamus, wirkt cancerogen bei Säugern



- Affinin, ein Isobutylamid aus den Wurzeln von Heliopsis longipes mit knock-down-Effekt



- Azadirachtin, aus Früchten und Blättern des Neem-Baumes Azadirachta indica, hochaktiver Fraßabschreckstoff und Entwicklungshemmer



Nicht alle als wirksam befundenen Stoffe können auch praktisch genutzt werden. Schwierigkeiten, die dabei auftreten können, sind:

- die Toxizität tritt nur bei bestimmten Applikationsmethoden auf, die feldmäßig nicht anwendbar sind (z.B. bei Injektion)
- die Substanz ist auch für Säuger toxisch oder cancerogen (viele Pflanzenalkaloide)
- die Substanz ist phytotoxisch (manche Monoterpene in ätherischen Ölen)
- die Molekularstruktur ist zu komplex, um synthetisch in größeren Mengen hergestellt zu werden (siehe Azadirachtin)
- die Gewinnung aus der natürlichen Quelle ist zu aufwendig und daher kommerziell uninteressant.

Darüber hinaus gibt es Hunderte von Pflanzen, deren insektizide Aktivität in großangelegten Screenings zwar erfaßt, aber noch nicht ausreichend erforscht wurde (Petrischeva, 1945; Hartzell, 1946; Heal et al., 1950; Klingauf, Bestmann und Vostrowsky, 1984).

Als Beitrag zur Erforschung pflanzlicher Insektizide werden im folgenden experimentellen Teil eigene Methoden zur Auffindung und Untersuchung von Pflanzen mit insektiziden Inhaltsstoffen und die Ergebnisse dieser Arbeit dargestellt und diskutiert.

B Experimenteller Teil

3. Material und Methoden

3.1. Pflanzen

Die Auswahl der einheimischen Testpflanzen erfolgte nach Hinweisen durch Literaturstudium sowie durch Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Fred Klingauf, Institut für biologische Schädlingsbekämpfung der Biologischen Bundesanstalt, Darmstadt. Ferner wurden auch ausländische Pflanzen, meist in Form ätherischer Öle, bearbeitet, die von Instituten in Indien und Brasilien stammten. Im allgemeinen wurden Pflanzen bevorzugt, deren ätherisches Öl in seiner Zusammensetzung noch weitgehend unbekannt war.
Viele Duft- und Gewürzpflanzen konnten im Aromagarten der Universität Erlangen geerntet und erforderlichenfalls dort in größeren Mengen kultiviert werden.
Verschiedene Wildkräuter und Teile von Bäumen wurden im Freiland gesammelt.

3.2. Versuchstiere, Zucht

Für Testzwecke wurden am Institut ganzjährig die Blattlausarten Metopolophium dirhodum (Bleiche Getreideblattlaus) und Acyrthosiphon pisum (Grüne Erbsenblattlaus) auf Weizen (Triticum sativum) bzw. Dicken Bohnen (Vicia faba) gezüchtet, sowie der Käfer Epilachna varivestis (Mexikanischer Bohnenkäfer) auf Buschbohnen (Phaseolus vulgaris). Zuchtansätze für die Blattlausarten wurden von der BBA, Darmstadt, für den Bohnenkäfer von der Fa. Hoechst, Frankfurt, bezogen.
Die Versuchstiere waren in Käfigen mit Holzrahmen, Glastüre und luftdurchlässigen Saran-Wänden untergebracht. Sie wurden unter Kunstlicht bei 16h-Langtag gehalten, was bei den Blattläusen zur ausschließlichen Bildung ungeflügelter Virginogenien führt, die sich parthenogenetisch fortpflanzen. Die Temperatur lag für Acyrthosiphon und Epilachna zwischen 21 und 27°C, für

Metopolophium zwischen 18 und 23°C. Die Bleiche Getreideblattlaus mußte kühler gehalten werden, weil sie bei Temperaturen über 25°C die Vermehrung einstellt (siehe Dean, 1974).

Für den Zuchtbetrieb wurde pro Woche 2 bis 4 mal Weizen in 8x8x8,5 cm Kunststofftöpfchen (je 12 Stück), 1 bis 2 mal Dicke Bohnen in 11x11x12 cm Töpfe (je 12 Stück) und 3 bis 4 mal Buschbohnen in 60x40 cm Europaschalen gesät. Als Substrat diente eine Mischung aus sandiger Gartenerde und Plantahum. Die Blattläuse wurden einmal wöchentlich auf frische Futterpflanzen umgesetzt, die Käfer bzw. -Larven mußen alle 1 bis 3 Tage umgesetzt werden.

Systematische Stellung der Testinsekten:

Stamm:	Arthropoda (Gliederfüßer)	
Klasse:	Insecta (Insekten)	
Ordnung:	Hemiptera (Schnabelkerfe)	
Unterordnung:	Homoptera (Gleichflügler)	
Familie:	Aphididae (Röhrenläuse)	
Unterfamilie:	Dactynotinae	
Tribus:	Aulacorthini	
Subtribus:	Metopolophiina	Microlophiina
Gattung:	Metopolophium	Acyrthosiphon
Art:	M. dirhodum Mordv. (Bleiche Getreideblattlaus)	A. pisum Mordv. (Grüne Erbsenblattlaus)

nach Börner, 1952)

Stamm:	Arthropoda
Klasse:	Insecta
Ordnung:	Coleoptera (Käfer)
Familie:	Coccinelidae (Marienkäfer)
Gattung:	Epilachna
Art:	E. varivestis Muls. (Mexikanischer Bohnenkäfer)

3.3. Testverfahren

3.3.1. Tests mit Blattläusen

3.3.1.1. Schnelltests

In den Schnelltests wurden die beiden Blattlausarten eingesetzt. Diese Tests wurden nach Anleitung des Instituts für Biologische Schädlingsbekämpfung, BBA Darmstadt, durchgeführt. Sie dienten

1) zur Feststellung der Wirksamkeiten von Rohextrakten und ätherischen Ölen (screening). Aufgrund dieser Vortests wurden die aktivsten Öle bzw. Extrakte ausgewählt und fraktioniert,

2) zur Feststellung der Wirksamkeiten einzelner Fraktionen und Reinsubstanzen

3) als Vortests, um geeignete Dosisbereiche für die Erstellung von Dosis-Effekt-Linien zu finden.

Diese Tests wurden in der Regel zweimal durchgeführt. Fraktionen konnten manchmal nur einfach getestet werden, wenn die Ausbeute zu gering war oder für Analysen weiter benötigt wurde.

Vorgehen: Weizenhalme mit einem Besatz von 25 bis 40 Blattläusen werden der Stammzucht entnommen. Je zwei Halme werden mit Watte umwickelt und in ein wassergefülltes Gläschen gesteckt. Mittels Lupenlampe wird die Anzahl der Blattläuse pro Gläschen festgestellt und notiert. Dann werden jeweils zwei Gläschen mit 1 ml derselben Testlösung besprüht. Hierfür verwendet man einen Parfümzerstäuber. Die Anzahl der Tiere, die unmittelbar beim Sprühvorgang abfallen, wird ebenfalls notiert und von der Anfangszahl abgezogen. Nach 16h zählt man den Blattlausbesatz erneut, wobei festgehalten wird, wieviele Tiere leben, wieviele tot sind und ob die Halme selbst geschädigt sind. Gegebenenfalls wird die Zahl der auftretenden Flecken angegeben oder die Schadensfläche am Blatt prozentual geschätzt. Die Befallsminderung, d.h. die Differenz zwischen ursprünglichem Besatz

und Anzahl der Überlebenden, wird aus den beiden Testansätzen gemittelt und in Prozent angegeben. Dieser Wert beinhaltet sowohl Minderungen durch Mortalität als auch durch Abwanderung.

Bei Tests mit der Erbsenblattlaus wird pro Gläschen ein Bohnenstengel mit drei Blattpaaren und einem Besatz von 200 bis 300 Tieren verwendet.

3.3.1.2. Dauertests

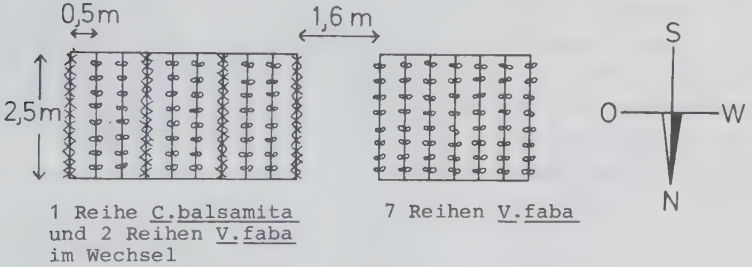
Das Dauertestverfahren wurde entwickelt, um die Aufzeichnung von Dosis-Effekt-Kennlinien, die auch die Grundlage für die Synergismusuntersuchung bildeten, zu ermöglichen. Außerdem konnten durch die verlängerte Testzeit von 65h auch mögliche Langzeiteffekte beobachtet werden. Es wurde die Bleiche Getreideblattlaus verwendet.

Vorgehen: Eine Woche vor dem Test werden je 5 bis 6 Weizenkörner in eine ausreichende Zahl Töpfchen gesät. Töpfe mit 4 bis 5 Keimlingen werden einen Tag vor dem Test mit Blattläusen aus der Stammzucht besetzt. Am Morgen des Versuchstages wird der Besatz grob gezählt und - falls erforderlich - nachbesetzt oder überzählige Läuse vorsichtig entfernt. Dies geschieht in jedem Falle mehrere Stunden vor Versuchsbeginn, so daß sich die Tiere beruhigen und auf den Halmen installieren können. Man erreicht so einen gleichmäßigen Besatz von 60 bis 85 Tieren pro Topf. Vor dem Test zählt man den Besatz nochmals genau unter der Lupenlampe. Jeweils zwei Töpfchen werden mit derselben Dosis behandelt, so daß pro Dosis etwa 150 Tiere zum Einsatz kommen. Die Konzentrationsunterschiede zwischen den Dosen sind stets gleich (Verdopplungen). Es werden zunächst die Kontrollen mit der Emulgatorlösung besprüht, dann die niedrigste Dosis usw. bis zur höchsten Dosis. Nach 16h wird der Blattlausbesatz wieder gezählt und die Befallsminderung in Prozent angegeben. Nach 40h und 65h zählt man nochmals, um mögliche Spätwirkungen oder Einflüsse auf Vermehrung und Larvenentwicklung festzustellen. Zur Erstellung einer Dosis-Effekt-Linie

wird eine Testreihe vier mal durchgeführt und die Mittelwerte der Befallsminderung der statistischen Überprüfung unterzogen.

3.3.1.3. Freilandtest

Im Frühjahr bis Sommer 1986 wurde im Aromagarten der Universität Erlangen ein Freilandversuch unternommen. Es sollte untersucht werden, wie sich eine Mischkultur von Dicken Bohnen (Vicia faba) und Balsamkraut (Chrysanthemum balsamita) auf Zuflug und Vermehrung der Bohnenschädlinge, Schwarze Bohnenlaus (Aphis fabae) und Grüne Erbsenblattlaus (Acyrthosiphon pisum), auswirkt. Dazu legte man ein Versuchs- und ein Kontrollbeet gemäß nachstehender Skizze an.



Jungpflanzen von C. balsamita erhielt man durch Teilung von im Aromagarten vorhandenen Pflanzen. Bohnenpflanzen erhielt man durch Aussaat von je 2 Samen der Sorte "Con Amore" im Abstand von 30 cm an Ort und Stelle.
Zur Kontrolle des Blattlausbefalls wurden in wöchentlichen Abständen jeweils gleiche Anzahlen von Reihen (mit je 8 Bohnenpflanzen) in beiden Beeten ausgezählt. Es wurde darauf geachtet, daß jede Reihe gleich oft in die Zählungen einbezogen wurde. Außerdem notierte man bei jeder Kontrolle die Anzahl der Ameisen, Marienkäfer und anderer Arthropoden, die sich auf den Bohnen aufhielten. Ebenso wurde die Zahl der heranwachsenden

Hülsenfrüchte festgehalten. Am Ende des Versuchs wurde der Ertrag an Bohnensamen für jedes Beet durch Wiegen bestimmt.

3.3.2. Tests mit dem Mexikanischen Bohnenkäfer

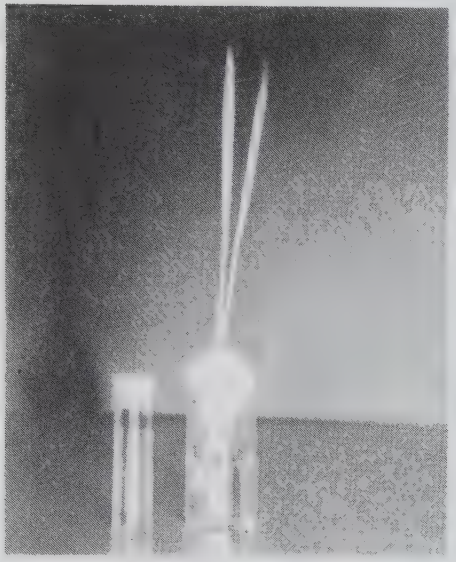
Vor jedem Test wurden die Käfer gewogen, so daß die Dosis in g/kg Gewicht ausdrückbar war. Die Tests wurden einmal wiederholt.

Vorgehen: Pro Testlösung werden je 4 männliche und 4 weibliche Käfer verwendet. Die Tiere sind während des Versuchs in Neubauer-Glasschalen untergebracht, die durch einen Aluminiumeinsatz in acht Räume unterteilt sind. Als Boden wird ein angefeuchtetes Filterpapier eingelegt. In jedes Abteil wird ein Buschbohnenblatt gegeben, das täglich erneuert wird. Man appliziert pro Käfer 5 µl Testlösung mittels Mikrolitерspritze äußerlich, dorsal zwischen Halsschild und Elytren. Nach 2h, 24h und 48h wird die Wirkung der Behandlung durch Beurteilung verschiedener Verhaltensparameter festgestellt. Im Versuchsprotokoll wird festgehalten, ob Mortalität auftritt, ob Besonderheiten in Lage, Flügelhaltung und Fraß vorliegen und ob Erbrechen auftritt und Eiablagen stattfinden.

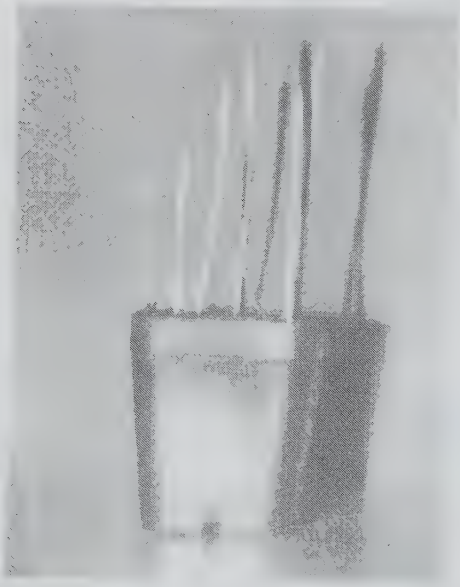
3.3.3. Lösungsmittel und Dosierung

Zu Beginn der Arbeit wurden zunächst verschiedene Lösungsmittel auf ihre Verträglichkeit für Blattläuse und Käfer untersucht. Als nicht verwendbar wurden Lösungsmittel eingestuft, die bei den Blattläusen mehr als 40 % Befallsminderung und bei den Käfern anhaltende Verhaltensanomalien (etwa taumelnde Bewegung oder Nicht-Annahme des Futters) hervorriefen. Für Blattlaustests konnten daraufhin Pentan, Diethylether, Aceton, Ethanol, Methanol und Wasser mit Zusatz von 0,02 % des Emulgators TWEEN 80 (Polyoxiethylensorbitanmonooleat; Fa. Sigma) verwendet werden. Dauertests wurden ausschließlich mit wäßrigen TWEEN 80-Lösungen ausgeführt, die die geringsten Beeinträchtigungen hervorriefen. Für Käfertests konnte man Aceton, Ethanol, Methanol und TWEEN 80-Lösung benutzen.

Abbildung 1: Versuchsanordnungen



a) Schnelltest mit Metopolophium dirhodum



b) Dauertest mit Metopolophium Dirhodum

Fortsetzung von Abb.1: Versuchsanordnungen

c) Test mit Epilachna varivestis
- bei Testbeginn

- Kontrolle bei Testende

- Testende bei Applikation einer fraßabschreckenden Substanz

Ätherische Öle wurden den Blattläusen zunächst in Konzentrationen von 10 bis 20 mg pro ml Lösung verabreicht. Die Bohnenkäfer erhielten jeweils 800 µg Öl pro Tier in 5 µl Lösung.

Extrakte wurden stets mit etwa gleichen Gewichten Pflanzenmaterial und gleichbleibenden Volumina Lösungsmittel hergestellt und so auf die Blattläuse angewendet. Das Einrotieren und Auswiegen verschiedener Extrakte ergab Werte zwischen 7 und 27 mg Extrakt pro ml Lösung. Für Käfertests wurden Lösungen mit Konzentrationen von 600 bis 800 µg Extrakt pro 5 µl Lösung vorbereitet.

Fraktionen, die man aus Ölen und Extrakten durch chromatographische oder nasschemische Aufarbeitung gewann, wurden im allgemeinen in niedrigeren Dosen getestet, um Anreicherungen feststellen zu können.

Reinsubstanzen wurden entweder in Konzentrationen von 0,5 bis 1,0 mg pro ml Lösung oder entsprechend ihrer Konzentration im Rohöl oder Rohextrakt oder in einer Fraktion appliziert.

3.4. Gewinnung der Pflanzeninhaltsstoffe und Analytik

3.4.1. Gewinnungsmethoden

Das Pflanzenmaterial wurde vor der Extraktion bzw. Destillation grob zerschnitten (Blätter, Wurzeln) oder zerpflückt (Blüten).

- Flüssigextraktion (Soxhlet)
  Verwendet wurde ein Soxhlet-Aufsatz mit 1 l Volumen, womit 250-300 g Pflanzen extrahiert werden können. Einige Pflanzenproben wurden aufeinanderfolgend mit Pentan, Diethylether und Ethanol extrahiert, so daß Lösungen mit Inhaltsstoffen zunehmender Polarität entstanden. Die Extraktionsdauer betrug mindestens 7h, je nach Erfordernissen auch länger (bis die Lösung im Aufsatz klar erschien).

- Wasserdampfdestillation
  200-500 g Pflanzenmaterial wurden mit 1,5 l demineralisiertem Wasser in einer Apparatur nach Sprecher (1963) destilliert. Das mit dem Dampf übergetriebene ätherische Öl wurde in 2 ml Pentan aufgefangen, das Pentan anschließend mit Stickstoff verblasen und die Ausbeute gewogen. Die Destillationsdauer betrug in der Regel 21h, stark schäumendes (saponinhaltiges) Material wurde nur 6h destilliert.

- Absude
  Die bei der Wasserdampfdestillation anfallende Abkochung wurde durch Abfiltrieren des Pflanzenmaterials erhalten.

- Digerieren
  100 g Pflanzenmaterial wurden in einem 1 l-Rundkolben zunächst mit 500 ml Diethylether versetzt und 24h unter oftmaligem Schütteln stehen gelassen. Anschließend wurde die Etherlösung dekantiert und das Material mit 500 ml Ethanol versetzt. Dieses behandelte man wiederum 24h wie beschrieben.

3.4.2. Fraktionierungsmethoden

- präparative Dünnschichtchromatographie
- Trocken- und Flüssig-Säulenchromatographie
- präparative Gaschromatographie
- präparative Gaschromatographie
- Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC)
- nasschemische Methoden

3.4.3. Analysemethoden

- Gaschromatographie (GC)
- Gaschromatographie-Massenspektrographie-Kopplung (GC-MS)
- UV-Spektroskopie
- Kernresonanzspektroskopie (NMR)

Ein Großteil der Fraktionierungs- und alle analytischen Arbeiten wurden von Herrn Dr. Uwe Kobold und Frau Dr. Elisenda Arboix am Institut für Organische Chemie, Erlangen, vorgenommen. Zu Einzelheiten über Fraktionierung und Analytik siehe Kobold (1987).

3.5. Statistische Methoden

3.5.1. Prüfung des Schnelltestverfahrens, Vorzeichentest

Jeweils 85 Wertepaare aus Schnelltests mit der Bleichen Getreideblattlaus (je 2 Gläschen wurden mit der gleichen Testlösung besprüht, s. 3.3.1.1.) von Juni-August 1986 und Oktober/November 86 wurden zur Prüfung herangezogen. Die Differenz zwischen den Einzelergebnissen jedes Wertepaares und die Mittelwerte für die Differenzen, die bei den Tests im Sommer bzw. Herbst 86 auftraten, wurden berechnet. Außerdem wurden die extremen Schwankungen (d.h. minimale Schwankungen von 0-3 % und maximale Schwankungen von 20 % und mehr) daraufhin geprüft, in welchem Wirksamkeitsbereich (0-100 % Befallsminderung) sie vorkommen. Abschließend wurde sowohl mit den Sommer- als auch mit den Herbst-Testwerten ein Vorzeichentest durchgeführt. Dabei bildet man für jedes Testpaar p_1 und p_2 die Quotienten $\frac{\nu_1}{n_1}$ bzw. $\frac{\nu_2}{n_2}$,

wobei ν = Anzahl der toten Testtiere nach 16h Versuchszeit und
n = Anzahl der eingesetzten Testtiere ist.
Das Prüfmaß, das einer χ^2-Verteilung folgt, berechnet man folgendermaßen:

$$\frac{(|X-Y|-1)^2}{X+Y}$$

wobei X = Anzahl der Versuche, wo $\frac{\nu 1}{n_1} > \frac{\nu 2}{n_2}$ (+)

und Y = Anzahl der Versuche, wo $\frac{\nu_2}{n_2} > \frac{\nu_1}{n_1}$ (-)

Den so berechneten Wert sucht man in einer χ^2-Tafel (oder -Tabelle) und erhält die entsprechende Irrtumswahrscheinlichkeit α. Bei $\alpha > 0{,}05$ wurden die Unterschiede innerhalb der Testpaare als nicht signifikant eingestuft.

3.5.2. χ^2-Anpassungstest

Der Anpassungstest diente der Prüfung der Homogenität von Testergebnissen gleichartiger Substanzen oder Substanzgemische. Er beantwortet die Frage, ob Differenzen zwischen den Ergebnissen zufälliger Natur sind oder signifikante Abweichungen darstellen. Der χ^2-Wert läßt sich nach folgender Formel berechnen:

$$\chi^2_m = \sum_{i=1}^{k} \frac{(\nu_i - \tau_i)^2}{\tau_i}$$

wobei m = Anzahl der Freiheitsgrade (k-2)

k = Anzahl der Testansätze

ν_i = Anzahl der Blattläuse, um die der Befall nach 16h gemindert ist (Tote und Abgewanderte)

τ_i = theoretischer Erwartungswert für ν_i

τ_i wird als $\tau_i = \bar{p} \cdot n_i$ berechnet, wobei

$\bar{p} = \frac{\sum \nu_i}{\sum n_i}$ und n_i = Anzahl der eingesetzten Testtiere.

Der so errechnete χ^2-Wert wird anhand einer χ^2-Tabelle, wie sie in jedem statistischen Tabellenwerk (z.B Fisher und Yates,

1957) zu finden ist, überprüft. Ist die Irrtumswahrscheinlichkeit > 5 %, so werden die Abweichungen als nicht signifikant, sondern rein zufällig betrachtet.

3.5.3. Statistische Bewertung von Dosis-Effekt-Versuchen

Die statistische Auswertung der Dauertests diente zur Erstellung von Dosis-Effekt-Kennlinien. Aus jeweils 4 Testreihen mit gleichen Versuchslösungen wurden die Mittelwerte der Besatzminderung berechnet. Die Werte nach 16h Versuchszeit wurden in ein doppelt-logarithmisches Wahrscheinlichkeitsnetz - mit der Konzentration der Testlösung als Abszisse und der prozentualen Besatzminderung als Ordinate - eingezeichnet. Zur Beurteilung wurde der Test nach Litchfield und Wilcoxon (1949) angewandt. Die optimale Lage der Geraden wird dabei mit Hilfe eines χ^2-Tests bestimmt. Zur Kontrolle wurde stets eine Regressionsgerade (mit Probittransfer) berechnet und eingezeichnet. So erhielt man die EC_{50}- und EC_{95}-Werte (effective concentration) mit ihren Konfidenzgrenzen sowie Steigung und Ordinatenabschnitt der Geraden. Weiterhin wurde jede Testreihengruppe auf herausfallende Werte untersucht. Im Falle, daß solche Ausreißer das Erreichen der 95 %-igen Sicherheitswahrscheinlichkeit verhinderten, wurden sie eliminiert (s. Sachs, 1984). Schließlich wurden die Dosis-Effekt-Linien auf Parallelität hin untersucht, was Voraussetzung für die Angabe von Wirksamkeitsunterschieden ist.

3.5.4. Synergismus-Test

Ein Test, der zum Ziel hatte, ein synergistisches Zusammenwirken verschiedener Substanzen zu untersuchen, wurde nach der Methode von Chen und Ensor (1953) ausgeführt. Dazu werden zunächst Dosis-Effekt-Geraden der Einzelsubstanzen erstellt und die EC_{50}-Werte mit Vertrauensgrenzen berechnet. Dann unterteilt man die beiden EC_{50}-Werte in Äquivalente, wobei jede EC_{50} den Wert 1,0 erhält. Diese werden in ein Koordinatensystem eingetragen,

eine Substanz auf der Abszisse, eine Substanz auf der Ordinate. Man verbindet die 1,0-Werte durch eine Gerade und kann sich nun anhand des Koordinatensystems geeignete Kombinationen der Einzelsubstanzen auswählen. Für die Kombination wird erneut eine Testreihe durchgeführt und die Dosis-Effekt-Gerade mit EC_{50}-Wert festgelegt. Trägt man diesen Wert ins Koordinatensystem ein, und liegt er auf der Verbindungsgeraden (bzw. innerhalb der Konfidenzgrenzen), so ist das Zusammenwirken der Substanzen als additiv für das gewählte Mischungsverhältnis auf dem EC_{50}-Niveau anzusehen. Liegt der Wert unterhalb der Additivitätsgeraden, wirkt die Kombination mehr als additiv, liegt der Wert oberhalb der Geraden, wirkt die Mischung antagonistisch.

Die Benennung der gefundenen Effekte und die Beurteilung von Effekten in anderen Wirkungsbereichen als dem EC_{50}-Niveau erfolgte gemäß den Definitionen von Unkelbach und Wolf (1985).

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Lösungsmitteltests

Die zu Beginn der Arbeit durchgeführten und in Abständen wiederholten Lösungsmitteltests ergaben folgende Mittelwerte (mit Standardabweichung s) für die Besatzminderung bei M. dirhodum 16h nach der Behandlung:

Pentan	27 %, s = 15
Diethylether	25 %, s = 13
Aceton	30 %, s = 14
Ethanol	37 %, s = 10
später	60 %, s = 3,9
Methanol	30 %, s = 11
später	62 %, s = 7,9

Als nicht brauchbar wegen zu hoher Toxizität wurde Hexan, Toluol, Isopropanol, Tetrahydrofuran und Methylenchlorid befunden. Spätere Tests ergaben für die polaren Lösungsmittel erhöhte Besatzminderung. Ethanol und Methanol wurden daraufhin nicht mehr verwendet. Nachdem vom Institut für Biologische Schädlingsbekämpfung der BBA, Darmstadt, ein neuer Zuchtansatz M. dirhodum zum Vergleich getestet werden konnte, stellte sich heraus, daß dieser unempfindlicher gegen die polaren Lösungsmittel war. Die Sensibilisierung scheint also - zumindest zum Teil - auf Zuchtdefekten zu beruhen.

4.2. Screening

Es wurden insgesamt 45 verschiedene Pflanzenarten getestet. Darunter waren 30 einheimische bzw. eingebürgerte Arten, die meist mit verschiedenen Lösungsmitteln extrahiert bzw. destilliert wurden. Oft wurden auch verschiedene Pflanzenteile (Blatt, Blüte, Frucht, Wurzel) bearbeitet. Das Resultat der Vorversuche ist in Tabelle 2 zusammengefaßt. Es handelt sich um unkorrigierte Werte, d.h. der Einfluß der Lösungsmittel ist in den Werten enthalten.

Die Tests mit A. pisum wurden später eingestellt, weil die Grüne Erbsenblattlaus störanfälliger und schwieriger zu zählen war als M. dirhodum.

Teilt man die Wirksamkeiten der unterschiedlichen Pflanzenaufbereitung in Bereiche von 0 bis 40 %, 41 bis 60 %, 61 bis 80 % und 81 bis 100 %, erhält man die in Tab. 3 dargestellte Verteilung.

Tabelle 2: Insektizid-Screening von Extrakten und Ölen in- und ausländischer Pflanzen mit Angabe der Pflanzenfamilie und -art, Pflanzenteile, Extraktionsmittel, Art und Konzentration der Testlösungen, Besatzminderung (= Mortalität + Abwanderung) bei den Blattläusen M. dirhodum und A. pisum und Mortalität beim Bohnenkäfer E. varivestis.

Familie Pflanzenart	Pflanzen-teile	Extraktions-mittel	gelöst in	Konz. mg/ml	Besatzminderung bei M.dirhodum %	A.pisum %	Mortalität bei E. varivestis %
Extrakte und Destillate, in Erlangen hergestellt							
Apiaceae							
Petroselinum crispum	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	83	57	
Blattpetersilie							
Anethum graveolens	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	36		
Dill	Blüten	Wasserdampf	Pentan	20	83		
	Blüten	Pentan	Pentan	-	30		
	Blüten	Ethanol	Ethanol	-	98		
	Früchte	Pentan	Pentan	-	56		
	Früchte	Ether	Ether	-	38		
	Früchte	Ethanol	Ethanol	-	92		0
Asteraceae							
Artemisia abrotanum	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	87		
Eberraute	Blätter	Absud	Wasser	-	30		

1. Fortsetzung Tabelle 2

Artemisia absinthium	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	58		0
Wermut	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	99		
Artemisia dracunculus	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	76		
Estragon							
Artemisia maritima	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	62		
Salzbeifuß	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	99		
Artemisia vulgaris	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	80		
Gemeiner Beifuß							
Chrysanthemum balsamita	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	41	65	
Balsamkraut	Blätter	Wasserdampf	Pentan	15	100	99	100
	Blätter	Pentan	Pentan	-	90	87	
	Blüten	Wasserdampf	Pentan	15	95		
Chrysanthemum parthenium	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	69		0
Mutternkraut	Blüten	Wasserdampf	Pentan	20	58		
Santolina chamaecyparissus	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	59		
Zypressenkraut		Absud	Wasser	-	+ 5	+15	
Ageratum houstonianum	Blüten	Ethanol	Ethanol	-	79	73	
Leberbalsam							
Tanacetum vulgare	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	86		0
Rainfarn	Blätter	Pentan	Pentan	-	25	33	
	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	72	73	
		Absud	Wasser	-	7		
Achillea filipendulina	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	52	47	
Hohe gelbe Schafgarbe							

2. Fortsetzung Tabelle 2

Achillea millefolium	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	89		0
Gemeine Schafgarbe		Absud	Wasser	-	35		
Tagetes erecta	Blätter	Pentan	Pentan		9	0	
Studentenblume							
Calendula officinalis	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	91		
Ringelblume	Blätter	Pentan	Pentan	-	8		
	Blätter	Ether	Ether	-	7		
	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	91		
	Blätter	Absud	Wasser	-	5		
	Blüten	Pentan	Pentan	-	31		
	Blüten	Ether	Ether	-	30		
	Blüten	Ethanol	Ethanol	-	77		
Helianthus tuberosus	Blätter	Pentan	Pentan	-	+ 6		
Topinambur	Blätter	Ether	Ether	-	12		
	Blätter	Ethanol	Ethanol	5	98		0
Eupatorium cannabinum	Blätter	Ether	Ether	-	53		
Wasserdost	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	98		
	Blüten	Ether	Ether	-	74		
	Blüten	Ethanol	Ethanol	-	98		
Salicaceae							
Salix caprea	Blätter	Wasserdampf	Pentan	8	57		
Salweide		Absud	Wasser	-	34		

3. Fortsetzung Tabelle 2

Anacardiaceae							
Rhus typhina	Blätter	Wasserdampf	Pentan	10	92		0
Essigbaum	Blätter	Absud	Wasser	-	21		
Rosaceae							
Sanguisorba minor	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	97		
Pimpinelle							
Filipendula ulmaria	Blätter	Wasserdampf	Pentan	15	72		
Mädesüß							
Betulaceae							
Betula pendula	Früchte	Ethanol	Ethanol	3	85		
Birke	Früchte	Ethanol	Ethanol	-	100		
	Blätter	Wasserdampf	Pentan	15	16		
	Blätter	Absud	Wasser	-	12		
	Blätter	Ether	Ether	-	2	+ 7	
	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	95	80	0
	Blätter	Ethanol	Ethanol	3	90		
Fagaceae							
Quercus robur	Blätter	Pentan	Pentan	-	39	50	
Stieleiche	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	92	86	
	Früchte	Ethanol	Ethanol	-	92		
Lamiaceae							
Nepeta mussini	Blätter	Wasserdampf	Pentan	15	80	43	

4. Fortsetzung Tabelle 2

Lamiaceae							
Nepeta mussini	Blätter	Wasserdampf	Pentan	15	80	43	
Katzenminze							
Rosmarinus officinalis	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	68		
Rosmarin							
Monarda didyma	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	51	23	
Indianernessel							
Ocimum basilicum sanctum	Blätter	Wasserdampf	Pentan	15	79		
Basilikum, Tulsi							
Solanaceae							
Physalis edulis	Blätter	Pentan	Pentan	-	+13		
Andenbeere	Blätter	Ether	Ether	-	11		
	Blätter	Ethanol	Ethanol	-	98		0
Valerianaceae							
Valeriana officinalis	Blätter	Wasserdampf	Pentan	10	89		
Baldrian							
Rutaceae							
Ruta graveolens	Blätter	Wasserdampf	Pentan	20	88		50
Weinraute	Blätter	Absud	Wasser	-	4		
	Wurzel	Wasserdampf	Pentan	20	98		38
	Wurzel	Absud	Wasser	-	37		

5. Fortsetzung Tabelle 2

Extrakte und Destillate aus Indien und Brasilien

Meliaceae						
Cedrela odorata	Holz	Wasserdampf	Pentan	20	84	
Palmaceae						
Acrocomia solerocarpa		Hexan	Ether	20	94	
Mauritia venifera Mart.		Hexan	Ether	20	98	
Euphorbiaceae						
Ricinus communis	Samen	Hexan	Ether	20	94	
Hevea brasiliensis		Hexan	Ether	20	96	
Passifloraceae						
Passiflora edulis Maracuja	Samen	Hexan	Ether	20	93	
Lamiaceae						
Elsholtzia strobilifera	Blüten-knospen	Wasserdampf	Pentan	10	77	38
Elsholtzia cristata	Kraut	Wasserdampf	Pentan	10	91	94
Elsholtzia pilosa	Blüten-knospen	Wasserdampf	Pentan	10	55	13
Clitoria racemosa		Hexan	Ether	20	100	

6. Fortsetzung Tabelle 2

Licitidaceae						
Bertholletia excelsa		Hexan	Ether	20	83	
Zingiberaceae						
Zingiber officinale Ingwer	Wurzel	Wasserdampf	Pentan	20	83	67
Curcuma		Wasserdampf	Pentan	20	97	
Rutaceae						
Citrus limon Zitrone	Frucht	Wasserdampf	Pentan	20	73	
Citrus bergamia Bergamott	Frucht	Wasserdampf	Pentan	20	82	

Tabelle 3: Anzahl der verschiedenen Pflanzenaufbereitungen und ihre Verteilung auf Wirksamkeitsbereiche

	Äther.Öle	Extrakte mit Pentan	Äther	Äthanol	Abkoche
Gesamtzahl	27	12	5	10	12
Wirksamkeit					
0 bis 40 %	2	5	3	2	12
41 bis 60 %	5	1	1	2	0
61 bis 80 %	5	2	1	4	0
81 bis 100 %	12	1	0	14	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, erhielt man fast alle hochwirksamen Lösungen entweder durch Wasserdampfdestillation oder durch Extraktion mit Ethanol.

4.3. Statistik zu den Schnelltests

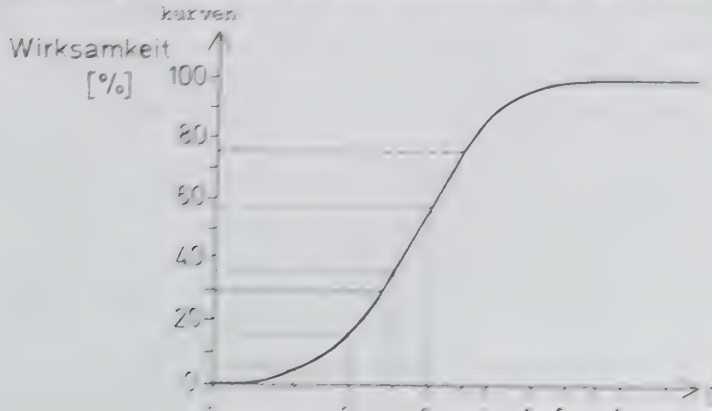
Je 85 Testwerte von Sommer und Herbst 86 wurden ausgewertet. Da M. dithodum im Sommer bei hohen Umgebungstemperaturen besonders unruhig erschien (es ließen sich mehr Tiere unmittelbar beim Besprühen vom Halm fallen), wählte man für die Auswertung "heiße" Testtage aus.
Der Mittelwert für die Differenzen innerhalb der Wettergruppe betrug für Sommer 86 12 % (s =9), für Herbst 86 17 % (s = 8). Es waren also keine großen Unterschiede feststellbar. Auch in der Anzahl der Extremwerte konnten keine signifikanten Abweichungen bei den Sommerwerten gefunden werden.
Eine Erklärung für das vermehrte "Absitzen" der Läuse im Sommer könnte der höhere Temperaturunterschied zwischen Umgebung und Spritzlösung sein. Durch die feine Zerstäubung werden die Tröpfchen beim Versprühen stark abgekühlt, so daß es sich bei dem Absitzen um eine Schreckreaktion der Blattläuse

handeln könnte. Die Prüfung jedoch die Bedeutung der verschiedenen Tests auf die Verteilung klären zu können.

Die Anwendung des Kolmogorov-Smirnov-Tests ergab für Summe 25 den Wert von 0,23 für die Irrtumswahrscheinlichkeit α = 1,0 %, die Behauptung, daß die Differenzen beobachtete zwischen der Ergebnissen der jeweils 1. und 2. Testgruppen besteht, ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 23 % behaftet. Für die Wilcoxon-Test betrug α = 0,31, also eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 31 %. Die Wilcoxon-Test scheint also sensitiver zu sein, was unterschiedliche Ergebnisse innerhalb der Testpaare betrifft.

Die Überprüfung der Extremwerte derselben, in welchen Wirksamkeitsbereich sie liegen, erbrachte folgende Verteilung: extreme große Differenzen (Unterschiede von 25 % und mehr zwischen den Einzelwerten eines Testpaares) kommen vorwiegend im Bereich 51 bis 75 % Befallsminderung vor (s. Abb. 2). In diesem Bereich liegen 69 % aller großen Differenzen. Weitere 26 % liegen im Bereich 0 bis 50 %, nur 5 % der extrem großen Differenzen liegen im Bereich 75 bis 100 %.
Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen, wenn man berücksichtigt, daß Dosis-Effekt-Linien in Abhängigkeit von der Aufwandmenge in der Regel einen sigmoiden Verlauf zeigen, wie in Abbildung 2 dargestellt. Eine Veränderung von beispielsweise 1,5 Einheiten am Beginn, im mittleren Teil der Kurve größere Konsequenzen für den Effekt der Behandlung als in den unteren und oberen, flachen Teilen der Kurve.

Abbildung 2: Sigmoider Verlauf von Wirksamkeitskurven



Neben den natürlich vorhandenen, individuellen Unterschieden in der Empfindlichkeit der Testtiere tragen also Dosisabweichungen zu den Differenzen bei. Fehlerquellen für solche Abweichungen sind z.B. Pipettierfehler; Wägefehler, schlecht gelöste Inhaltsstoffe in der Spritzlösung, so daß die Düse mehr oder weniger verstopft wird; Inhaltsstoffe, die beim Abkühlen (durch die Zerstäubung) mehr oder weniger auskristallisieren und an der Düse hängen bleiben; mangelndes Spülen des Zerstäubers zwischen den Applikationen.

Extrem geringe Differenzen (Unterschiede von 0 bis 3 % zwischen den Einzelwerten eines Testpaares) findet man zu 55 % im Bereich über 75 % Befallsminderung. 23 % dieser einheitlichen Testergebnisse liegen im mittleren Bereich und nur 22 % im unteren Bereich von 0 bis 30 % Befallsminderung. Auffällig ist der geringe Prozentsatz homogener Tests im unteren Wirksamkeitsbereich, wo die Linie ja ebenfalls flacher abfällt, man also einen ähnlichen Wert wie im Bereich über 75 % vermuten würde. Bei geringer Toxizität der Testlösung gewinnt jedoch die Vermehrung der Testtiere während des Versuches Einfluß auf das Testergebnis. Die Anzahl der adulten, gebärfähigen Blattläuse pro Halm ist aber nicht einheitlich, so daß hier eine weitere Fehlerquelle für Abweichungen vorliegt.

4.4. Untersuchte ätherische Öle

4.4.1. Chrysanthemum balsamita L. (Balsamkraut)

4.4.1.1. Systematische Stellung und Einführung

Systematische Stellung:

Abteilung:	Spermatophyta (Samenpflanzen)
Unterabt.:	Magnoliophytina (Bedecktsamer)
Klasse:	Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige)
Unterklasse:	Asteridae
Ordnung:	Asterales
Familie:	Asteraceae (Korbblütler)
Gattung:	Chrysanthemum (Wucherblume)
Art:	Chrysanthemum balsamita L. (Balsamkraut)
Varietät:	C. b. tanacetoides (?)

Für Chrysanthemum balsamita, das auch als Pyrethrum balsamita, Pyrethrum tanacetum, Tanacetum balsamita, Balsamita major und Balsamita vulgaris bekannt ist (Hegi, 1906-1908), sind einige Varietäten beschrieben. Diese unterscheiden sich

1) durch das Vorhandensein oder Fehlen von weißen Strahlenblüten
2) durch die verschiedenartige Komposition der ätherischen Öle.

Die Varietäten "major" (Hoppe, 1958), "typicum" (Koch, 1902) und "balsamita" (Göckeritz, 1968) besitzen weiße Strahlenblüten. Im Öl der Varietät "balsamita" fand Göckeritz als Hauptbestandteil l-Campher (72 bis 83 %). Wolbis (1979) unterschied drei Morphotypen, wovon zwei l-Campher als Hauptbestandteil (ca. 86 %) beinhalteten und der dritte 45 % Campher und 37 % l-Thujon enthielt.
Die Varietäten "tanacetoides" (Hoppe, 1958; Voigt et al., 1938) und "balsamitellum" (Koch, 1902) besitzen keine weißen Strahlenblüten, sondern nur gelbe Röhrenblüten. Über die Morphologie und Chemie der Varietät "balsamitellum" ließen sich keine weiteren Angaben finden. Für die Varietät "tanacetoides" bestimm-

ten Voigt et al. (1938) l-Carvon mit Anteilen von 69,9 bis 81,8 % als Hauptkomponente.
Das Balsamkraut aus dem Aromagarten Erlangen, das in dieser Arbeit untersucht wurde, weist nur gelbe Röhrenblüten auf. Die morphologischen Merkmale der Varietät "tanacetoides" stimmen mit "unserem" Balsamkraut überein bis auf ein Merkmal der Stengelblätter: meist vier (bis zu sechs) seitliche Blattlappen an der Basis beschrieben Voigt et al., zwei basale Blattlappen findet man bei "unserem" Balsamkraut. Die Autoren erwähnen jedoch, daß "tanacetoides" von anderen Systematikern (Robinson und Fernald, 1906) ebenfalls mit zwei Blattlappen an der Basis der Stengelblätter beschrieben wird. Ein weiterer Unterschied besteht zwischen den l-Carvon-Anteilen im ätherischen Öl, die bei "unseren" Ölen niedriger liegen. Voigt et al. benutzten jedoch andere Methoden zur Carvon-Bestimmung, woraus möglicherweise die Unterschiede resultieren.

4.4.1.2. Versuche zur Aufklärung des wirksamen Prinzips

Eine Übersicht zu den Vorversuchen gibt Tabelle 4.

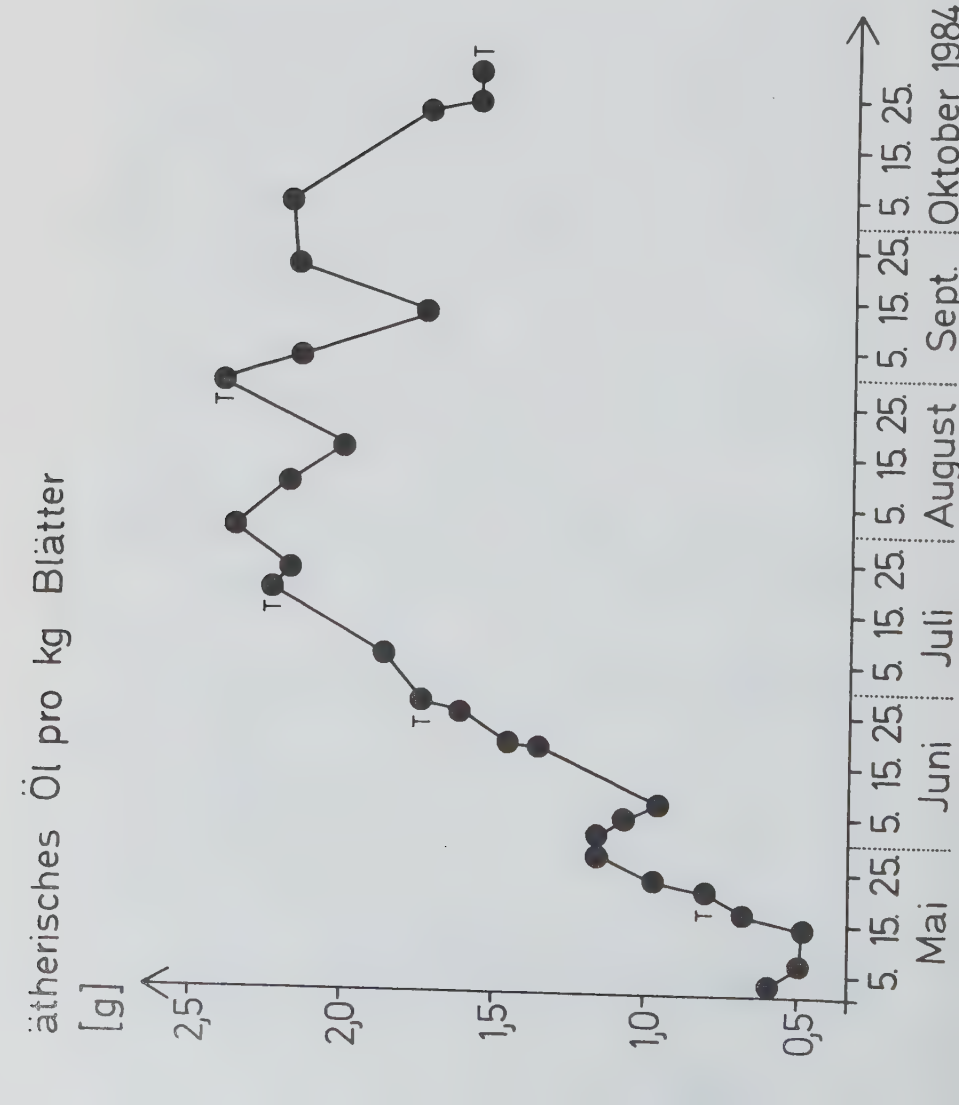
Tabelle 4: Insektizidwirkung von Extrakten und ätherischen Ölen aus dem Balsamkraut auf M. dirhodum und A. pisum und phytotoxische Wirkung auf Weizen und Dicke Bohne

Testlösung, Konz. in mg/ml	Befallsminderung bei M. dirh.	A. pisum	Phytotoxizität bei Weizen	D. Bohne
Blätter: Pentanextr. roh	91	87	keine	keine
Ethanolextr. roh	41	65	"	"
äther. Öl, in Pentan				
0,015	24	26	"	"
0,15	41	20	"	"
1,5	83	72	"	"
15,0	99	98	wenige Flecke	wenige Flecke
Blüten: äther. Öl,				
15,0	95	-	wenige Flecke	-

Die wirksamen Bestandteile waren im ätherischen Öl und im Pentanextrakt von Blättern und Blüten enthalten. Da das ätherische Öl leichter zu bearbeiten war (Gründe: kleinere Volumina nach Destillation, weniger Verunreinigungen durch Lipide und Wachse), wurde zunächst dieses weiter untersucht.

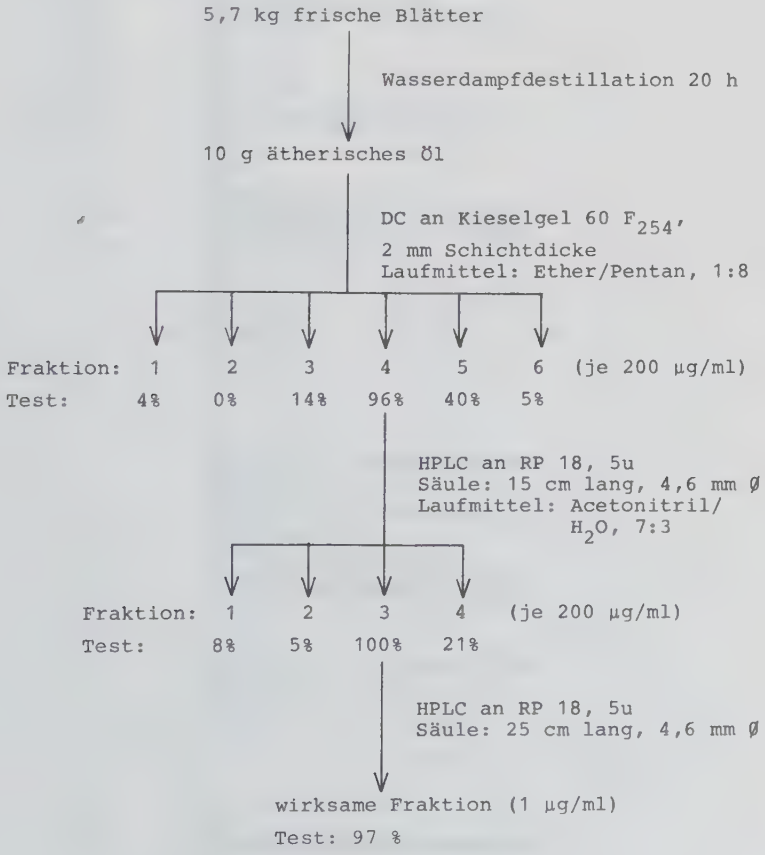
Es wurden insgesamt 13,4 kg Blätter über ein ganze Vegetationsperiode hinweg geerntet und frisch destilliert. Abbildung 3 zeigt die Abhängigkeit des Ölgehaltes vom Erntezeitpunkt. Der maximale Ölgehalt trat im Monat August auf mit 2,5 mg Öl pro kg frischer Blätter (0,24 %). Die Ausbeute betrug insgesamt 19,9 g, was einem durchschnittlichen Ölgehalt von 0,15 % entspricht. 10 g des Öles wurden für eine HPLC-Trennung aufgewendet, die zur Aufklärung der wirksamen Struktur führte. Den Trennungsgang zeigt Abbildung 4. Ausführliche Information zu den erforderlichen Fraktionierungen und analytischen Arbeiten findet man in der Dissertation von Kobold (1987). In Tabelle 5 sind die Komponenten des Öles aufgeführt. Abbildung 5 zeigt ein Gaschromatogramm des ätherischen Öles, worin das Signal 108 der wirksamen Substanz entspricht. Es handelt sich um Pyrethrin I, das - wie schon erwähnt (2.1.2.) - der wirksamste Bestandteil von Pyrethrum-Präparaten ist, die aus Extrakten der Blüten von Chrysanthemum cinerariaefolium und Chrysanthemum roseum hergestellt werden. Der Pyrethroid-Gehalt von Cinerariaefolium-Blüten aus Kenia, einem der Hauptanbauländer, beträgt mindestens 1,3 %, 35 % davon ist Pyrethrin I, also 0,46 % (Naumann, 1981).
Ein Vorkommen von Pyrethrin in Chrysanthemum balsamita ließ sich durch Nachforschungen in der Literatur zunächst nicht belegen. Am Ende der Arbeiten stieß man auf eine Angabe bei Gnadinger (1945), der einen russischen Autoren, Mardzhanyan (1941), zitiert. Er gibt für armenisches Pyrethrum cinerariaefolium einen Pyrethroidgehalt von 0,94 bis 1,2 % an. Der Pyrethrin I-Gehalt betrüge 0,23 bis 0.76 %. In armenischem Pyrethrum balsamita sei 0,11 % Pyrethrin I enthalten bei einem Gesamt-Pyrethroidgehalt von 0,42 %. Zur Bestimmung der angegebenen Gehalte diente die Tattersfield-Methode, eine relativ unspezifische Titration der Chrysanthemumsäure. Zwar ist "balsamita" in der

Abbildung 3: Abhängigkeit des Ölgehalts der Blätter von Chrysanthemum balsamita L. vom Erntezeitpunkt. Mit T gekennzeichnet: Öle, die zur Untersuchung jahreszeitlicher Unterschiede in der Wirksamkeit verwendet werden.



Flora der UdSSR der Gattung Pyrethrum zugeordnet (Bloszyk und Drozdz, 1978), da die Art aber in mehrere Varietäten aufspaltet und verschiedene chemische Rassen existieren, kann die Identität des armenischen mit "unserem" Balsamkraut nicht als gesichert gelten.

Abbildung 4: Fraktionierungsschema zur Isolierung von Pyrethrin I aus dem ätherischen Öl der Blätter von Chrysanthemum balsamita L. mit Angabe der Befallsminderungen im Test mit M. dirhodum in % (nach Kobold, 1987).



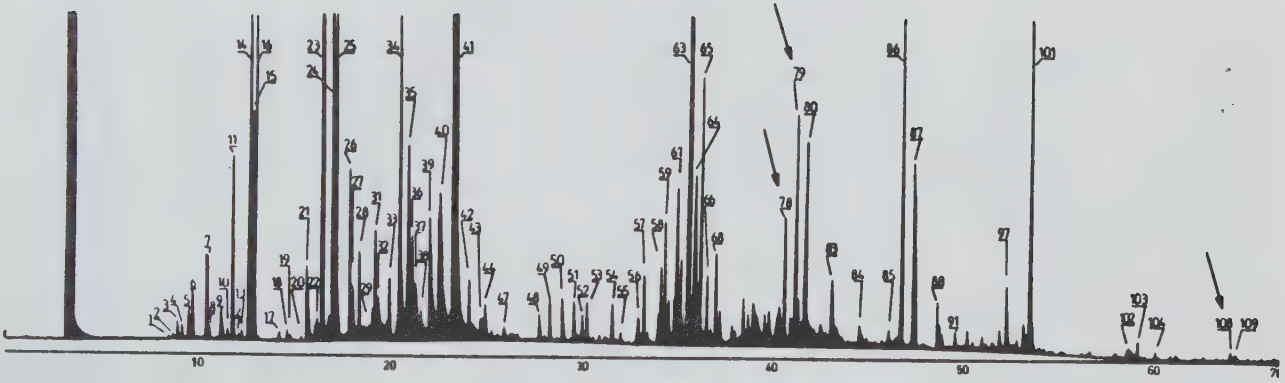


Abb. 5 : Gaschromatogramm des ätherischen Öles von Chrysanthemum balsamita L., 50 m SE54 fused silica, Trägergas Stickstoff 22 cm/s, Temperaturprogramm 4 min 60°C, 3°/min bis 260°C, Detektor FID. Zuordnung der Substanzen in Tab. 5, S. 65 (nach Kobold, 1987).

Tabelle 5: Komponenten des Blattöls aus C. balsamita L., Retentionsindizes (SE54), Prozentanteile (FID-Werte) und Identifizierungsmethode (m = Massenspektrum, i = Retentionsindex oder Kochromatographie, NMR = ^{1}H-NMR) (vgl. Gaschromatogramm Abb. 5, S. 64, nach Kobold, 1987).

Nr.	Substanz	RI (SE54)	Gehalt (%)	ident. durch
1.	Tricyclen	922	0.01	m,i
2.	Thujen	926	0.01	m,i
3.	-Pinen	933	0.01	m,i
5.	Camphen	948	0.07	m,i
6.	Fenchen	954	0.10	m,i
7.	Sabinen	973	0.19	m,i
8.	ß-Pinen	977	0.04	m,i
11.	$C_{10}H_{14}$	1006	0.52	m
12.	^{3}-Caren	1013	0.02	m,i
13.	-Terpinen	1018	0.03	m,i
14.	p-Cymol	1024	0.98	m,i
15.	Limonen	1029	0.59	m,i
16.	1.8-Cineol	1032	1.27	m,i
17.	-Terpinen	1059	0.08	m,i
21.	Terpinolen	1091	0.20	m,i
22.	Linalool	1100	0.08	m,i
23.	Thujon	1108	10.41	m,i
24.	iso-Thujon	1120	1.49	m,i
27.	t-Pinocarveol	1142	0.40	m,i
29.	Citronellal	1155	0.01	m,i
30.	Terpinen-4-ol	1177	0.10	m,i
35.	Dihydrocarvon	1200	0.83	m,i
41.	Carvon	1251	49.30	m,i
43.	Perillaaldehyd	1278	0.43	m,i
46.	Bornylacetat	1289	0.46	m,i
47.	Carvacrol	1304	0.09	m,i

Fortsetzung Tabelle 5:

48.	Carvylacetat	1341	0.11	m,i
49.	Terpinylacetat	1352	0.14	m,i
50.	c-Carvylacetat	1365	0.17	m,i
51.	-Copaen	1380	0.15	m,i
54.	Caryophyllen	1425	0.12	m,i
57.	t-ß-Farnesen	1459	0.39	m,i
78.	Cadinol	-	0.61	m, (Derivate)
79.	t-Buurolol	-	0.95	m, (Derivate)
108.	Pyrethrin I	-	0.03	m,i,NMR
			70.39 %	

Unsere Untersuchungen ergaben einen Pyrethrin I-Gehalt des ätherischen Öles der Blätter von 0.03 bis 0.05 %. Auf die frische Pflanze bezogen bedeutet dies einen Gehalt von 0,00001 %. Die Wasserdampfdestillation ist jedoch nicht die optimale Methode zur Gewinnung von Pyrethrinen (s. Gnadinger, 1936, S. 508 ff.). Eine vergleichende Extraktion von Cinerariaefolium-Blüten aus dem Aromagarten und Balsamita-Blättern mit Pentan ergab, daß in C. cinerariaefolium im selben Gewicht etwa 12 mal mehr Pyrethrin I enthalten ist. Der Vergleich erfolgte über eine gaschromatographische Analyse der Extrakte, wobei die Retentionsflächen von Pyrethrin I jeweils zur Summe der Retentionsflächen ins Verhältnis gesetzt wurde.
Außerdem wurden Blüten von C. roseum und Blätter von C. balsamita destilliert und vergleichend gaschromatographiert. Es zeigte sich, daß auch C. roseum wesentlich mehr Pyrethrin enthält als C. balsamita. In Abbildung 6 sind die Gaschromatogramme beider Öle sowie eines Pyrethrin-Standards der Fa. Hoechst dargestellt. Der Vergleich der Gehalte wurde dadurch erschwert, daß während der Gaschromatographie Isomerisierungen bei Pyrethrin I und II auftraten. Genaue, quantitative Angaben über den Pyrethrin-Gehalt sind aus diesem Grunde nicht möglich.

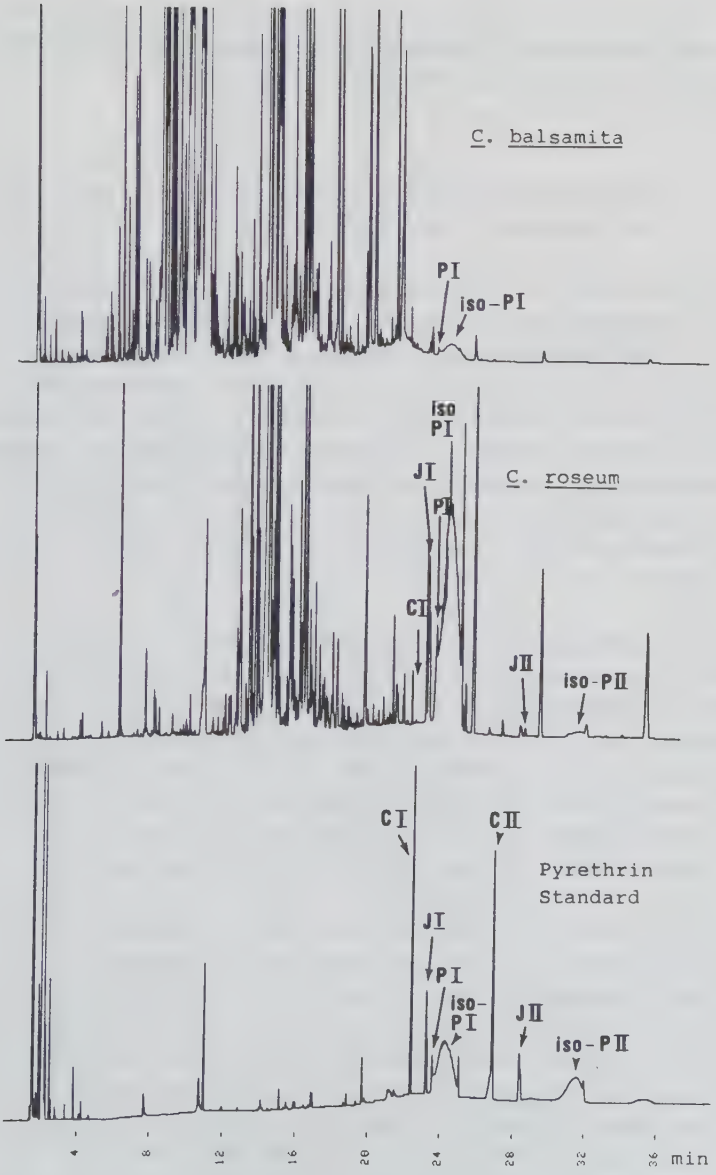


Abb. 6 : Vergleich der Gaschromatogramme der ätherischen Öle von C. balsamita und C. roseum mit einem Pyrethrin-Standard der Firma Hoechst
C = Cinerin, P = Pyrethrin, J = Jasmolin

Da C. roseum auch in unseren Breiten gut gedeiht, ist ein gewerblicher Anbau von C. balsamita zum Zwecke der Pyrethrum-Gewinnung als unrationell anzusehen.

4.4.1.3. Untersuchung von jahreszeitlichen Unterschieden in der Wirksamkeit der Balsamita-Öle

Um festzustellen, ob jahreszeitliche Schwankungen in der Wirkung der Balsamkrautöle auftreten, wurden Dosis-Effekt-Linien erstellt. Dazu wurden Verdünnungsreihen mit Konzentrationen zwischen 100 µg und 12,8 mg Öl pro ml Lösung von Blattölen hergestellt, die aus Ernten in den Monaten Mai, Juni, Juli, August und Oktober 1985 stammten. Zum Vergleich wurde auch ein Blütenöl (Oktoberernte) getestet. Um Lösungsmitteleffekte so weit als möglich auszuschalten, wurde in demineralisiertem Wasser mit einem Zusatz von 0,02 % des Emulgators TWEEN 80 getestet. Zum Testverfahren siehe 3.3.1.2.

Die Besatzminderung bei den Kontrollen betrug nach 16 h Versuchszeit durchschnittlich 5 %. Da dieser Wert relativ gering und die Streuungen der einzelnen Tests mit den Ölemulsionen mindestens ebenso hoch waren, wurde auf eine Korrektur der Werte (etwa nach Abbott, 1925) vor der statistischen Auswertung verzichtet. Nach Anwendung des Tests von Litchfield und Wilcoxon (1949) erhält man die in Abbildung 7 wiedergegebenen Dosis-Effekt-Linien für die verschiedenen Balsamkrautöle.

Da ein Vergleich mit einem handelsüblichen Pyrethrum-Präparat interessant erschien, wurden mit "Spruzit" (Fa. Neudorff, Emmerthal) entsprechende Tests durchgeführt. Dieses Präparat ist mit Piperonylbutoxid formuliert. Als Kontrolle diente daher wäßrige Piperonylbutoxid-Lösung in der Konzentration, wie sie in der höchstkonzentrierten Verdünnungsstufe vorlag. Besatzminderungen traten bei diesen Kontrollen kaum auf. Der Besatz vergrößerte sich nach 16 h um durchschnittlich 7 %. Abbildung 8 zeigt die Dosis-Effekt-Abhängigkeit für "Spruzit".

Abbildung 7: Dosis-Effekt-Linien der Blattöle aus den Erntemonaten Mai ○—○, Juni ●---●, Juli ⊕-·-⊕, August ⊙·····⊙ und Oktober ⊘—⊘ und eines Blütenöles ◑—◑ (Oktoberernte) von C. balsamita.

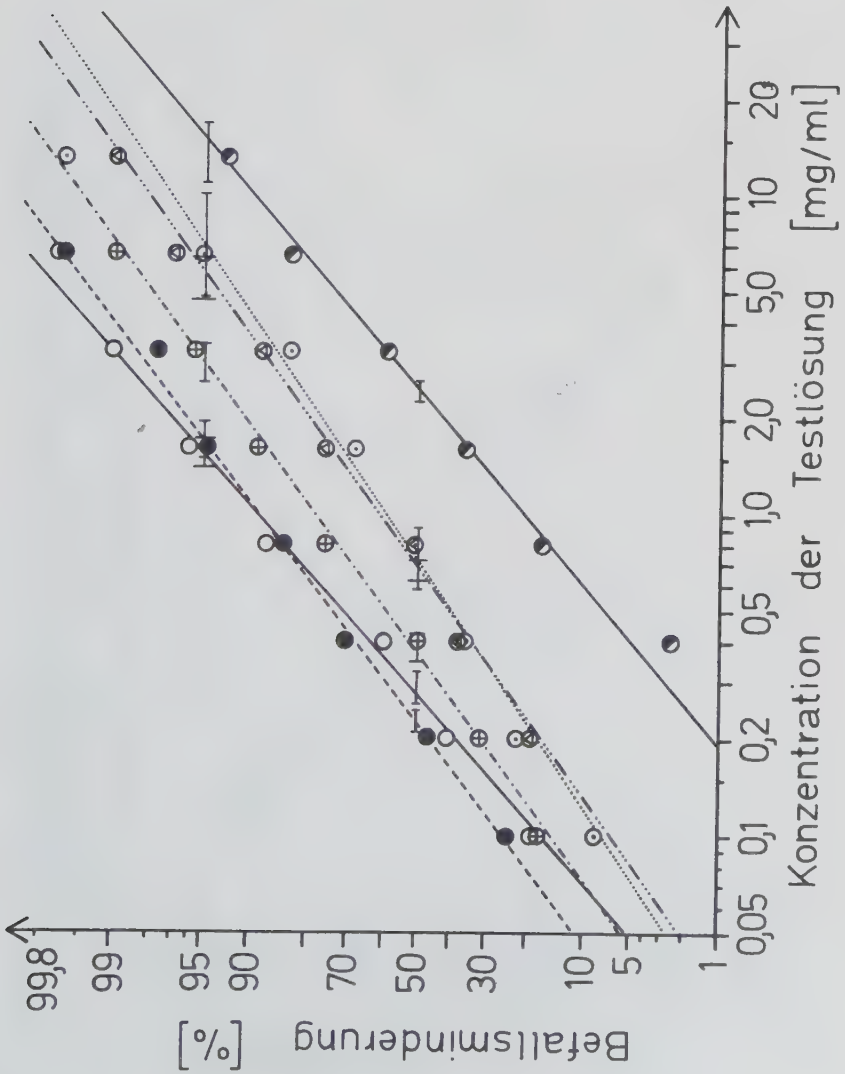


Abbildung 8: Dosis-Effekt-Linie von "Spruzit".

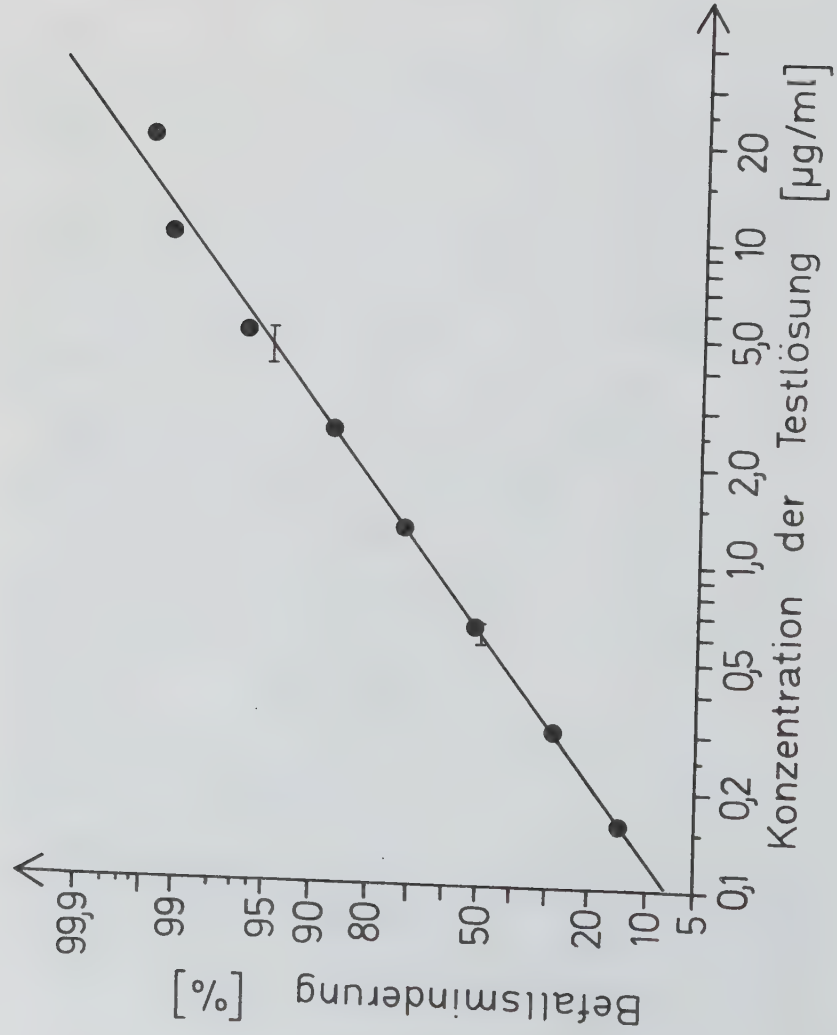


Tabelle 6: Insektizide Wirksamkeit von Balsamkraut-Blattölen verschiedener Erntezeiten gegenüber M. dirhodum im Vergleich mit ätherischem Öl aus Blüten und einem Handelspräparat. EC_{50}- und EC_{95}-Werte, Vertrauensgrenzen, Steigung der Dosis-Effekt-Geraden und gaschromatographisch ermittelter Pyrethringehalt.

Balsamkrautöl Erntedatum	EC_{50} [µg/ml]	Vertrauensgrenzen (p = 0.05)	EC_{95} [µg/ml]	Vertrauensgrenzen (p = 0.05)	Steigung Dosis-Effekt	Pyrethrin I %
21. 5.*	270	252-318	1530	1378-1698	2.77	0.04
27. 6.*	222	205-241	1680	1474-1915	3.39	0.04
19. 7.*	370	342-401	2920	2539-3358	3.54	0.03
29. 8.	715	573-892	6800	4690-9860	3.89	0.05
30.10.*	655	610-703	5300	4609-6095	3.54	0.03
Blüten (18.10)*	2390	2224-2568	14550	10582-16528	2.97	-
Spruzit ^{R} *	0.6	0.55-0.65	4.5	3.94-5.21	3.43	-

* $p \leq 0.05$ im χ^2-Test nach LITCHFIELD und WILCOXON (1949).

Der Dosisbereich reichte von 156 ng bis 20 µg ai (active ingredient = Pyrethroide) pro ml Lösung.

In Tabelle 6 sind die EC_{50}- und EC_{95}-Werte mit Konfidenzgrenzen, die Steigungen der Geraden und die gaschromatographisch bestimmten Pyrethrin I-Gehalte der fünf verschiedenen Blattöle, des Blütenöls und des Spruzits aufgeführt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Korrektheit der Geraden und der Konfidenzgrenzen beträgt jeweils ≤ 5 %. Lediglich in der Testreihe mit dem August-Blattöl war die Irrtumswahrscheinlichkeit für die Gerade größer als 5 %. Die Konfidenzgrenzen wurden dementsprechend neu berechnet und erweitert.

Wie der Tabelle zu entnehmen ist, treten deutliche Unterschiede in der Wirksamkeit der fünf Blattöle und des Blütenöls auf. Das Mai- und das Juni-Öl sind am aktivsten, das Juli-Öl ist wirksamer als das August- und das Oktober-Öl. Die Unterschiede zwischen Mai- und Juni-Öl sowie zwischen August- und Oktober-Öl sind nicht signifikant, da sich ihre Konfidenzgrenzen überschneiden. Ein signifikanter Unterschied besteht dagegen zwischen den Aktivitäten der Blattöle und dem schwächer wirkenden Blütenöl.
Jahreszeitliche Unterschiede im Pyrethrin-Gehalt, die offenbar in Zusammenhang mit der Entwicklung der Öldrüsen stehen, sind auch für Chrysanthemum cinerariaefolium bekannt (Bhat und Menary, 1979).
Das Ölgehaltsmaximum das Balsamkrautes (August) stimmt jedoch nicht mit dem Maximum der Aphizidwirkung (Mai/Juni) überein.

Die Wirkverhältnisse der Öle und des Pyrethrum-Präparates, Spruzit, lassen sich dann aus den Dosis-Effekt-Linien entnehmen, wenn diese parallel sind. Nach Anwendung des in der Litchfield und Wilcoxon-Methode vorgesehenen Parallelitätstests kann man die Wirkverhältnisse und ihre Konfidenzgrenzen berechnen. Tabelle 7 gibt das Ergebnis dieses Tests wieder. Die Probe mit der größeren Aktivität steht jeweils an erster Stelle. Die Irrtumswahrscheinlichkeit für die angegebenen Konfidenzintervalle beträgt 5 %. Alle in der Tabelle nicht aufgeführten Paare waren nicht parallel.

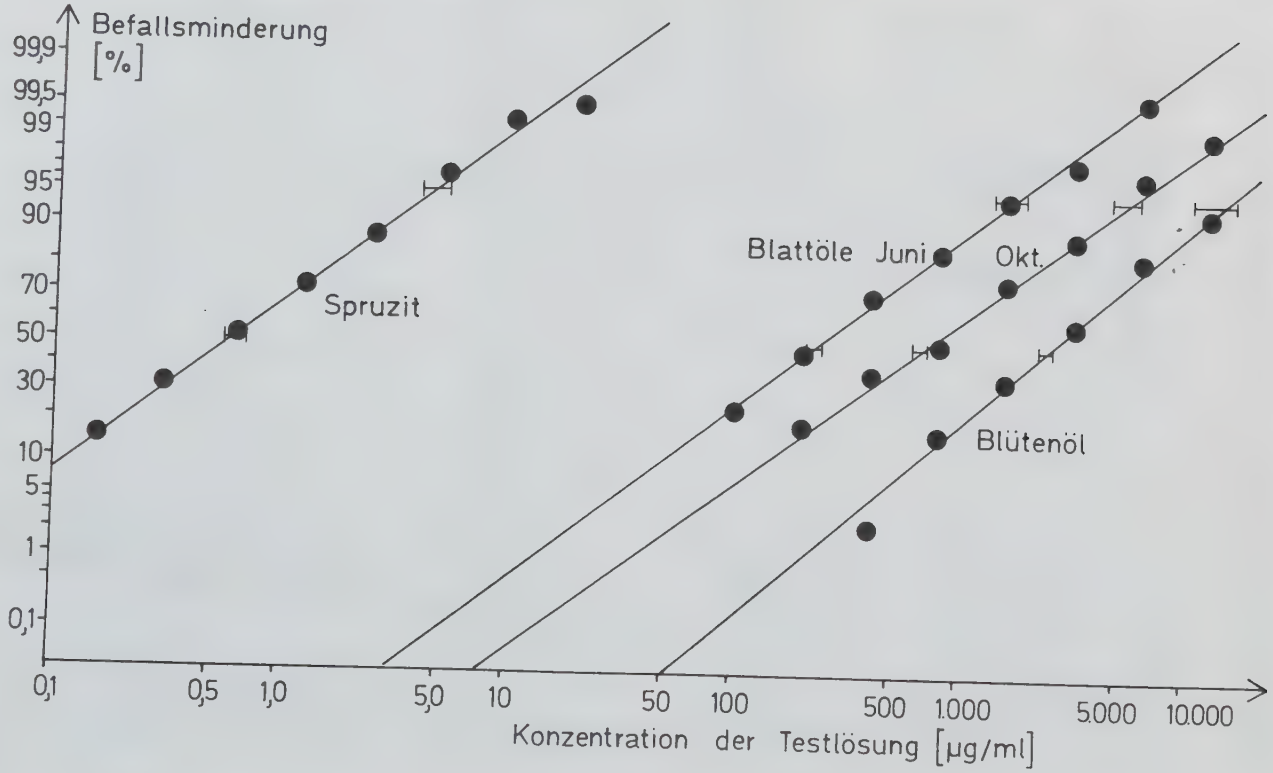
Tabelle 7: Vergleich der Aktivitäten von "Spruzit" und Balsamkrautölen

Vergleichspaar	Konfidenzintervall für das Wirkverhältnis (p = 0,05)
Spruzit - Juniöl	330 - 410
Spruzit - Juliöl	550 - 690
Spruzit - Augustöl	950 - 1500
Spruzit - Oktoberöl	980 - 1200
Juniöl - Juliöl	1,5 - 1,9
Juniöl - Augustöl	2,6 - 4,1
Juniöl - Oktoberöl	2,7 - 4,1
Maiöl - Blütenöl	8,0 - 9,8
Juliöl - Augustöl	1,5 - 2,4
Juliöl - Oktoberöl	1,6 - 2,0
Augustöl- Oktoberöl	kein signifikanter Unterschied

Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist das Maiöl 8,0 bis 9,8 mal wirksamer als das Blütenöl. Spruzit besitzt eine 330 bis 410 mal höhere Aktivität als das wirksamste Blattöl (Juni) und eine 950 bis 1500 mal höhere Aktivität als das wirkungsschwächste Blattöl (August). Die parallelen Dosis-Effekt-Linien von Spruzit, den Juni- und Oktober-Blattölen und dem Blütenöl mit Konfidenzgrenzen zeigt Abbildung 9.

Die Besatzkontrollen 40 h und 65 h nach der Behandlung ergaben weder bei den Ölen noch bei Spruzit weitere Beeinträchtigungen der Blattläuse. In der Regel stellte sich bereits nach 40 h eine Besatzvergrößerung ein, d.h. die nicht abgetöteten Tiere vermehrten sich bzw. besiedelten die Halme wieder. In Abbildung 10 sind die Besatzvergrößerungen 40 h und 65 h nach der Behandlung mit Blattölen von Juni, August und Oktober, mit dem Blütenöl und mit Spruzit dargestellt. Auf die Darstellung der Mai- und Juli-Kurven wurde der Übersichtlichkeit halber ver-

Abbildung 9: Vergleich der Wirksamkeiten von "Spruzit" und C. balsamita-Ölen anhand paralleler Dosis-Effekt-Linien.



zichtet. Auch hier bestätigte sich die Reihenfolge der Wirksamkeiten. Der Zuwachs nach Applikation von Juniöl ist kleiner als nach August- und Oktoberöl, ist kleiner als nach Blütenöl. Bei hohen Konzentrationen der Testlösung trat erwartungsgemäß eine geringere Vermehrung auf als bei niedrigen Konzentrationen.

Abbildung 10, S. 76: Untersuchung der Langzeitwirkung. Besatzvergrößerung 40 h und 65 h nach Behandlung mit C. balsamita öl (O——O Juni, △——△ August, ◇——◇ Oktober, O——O Blüten) und Spruzit (X·····X).

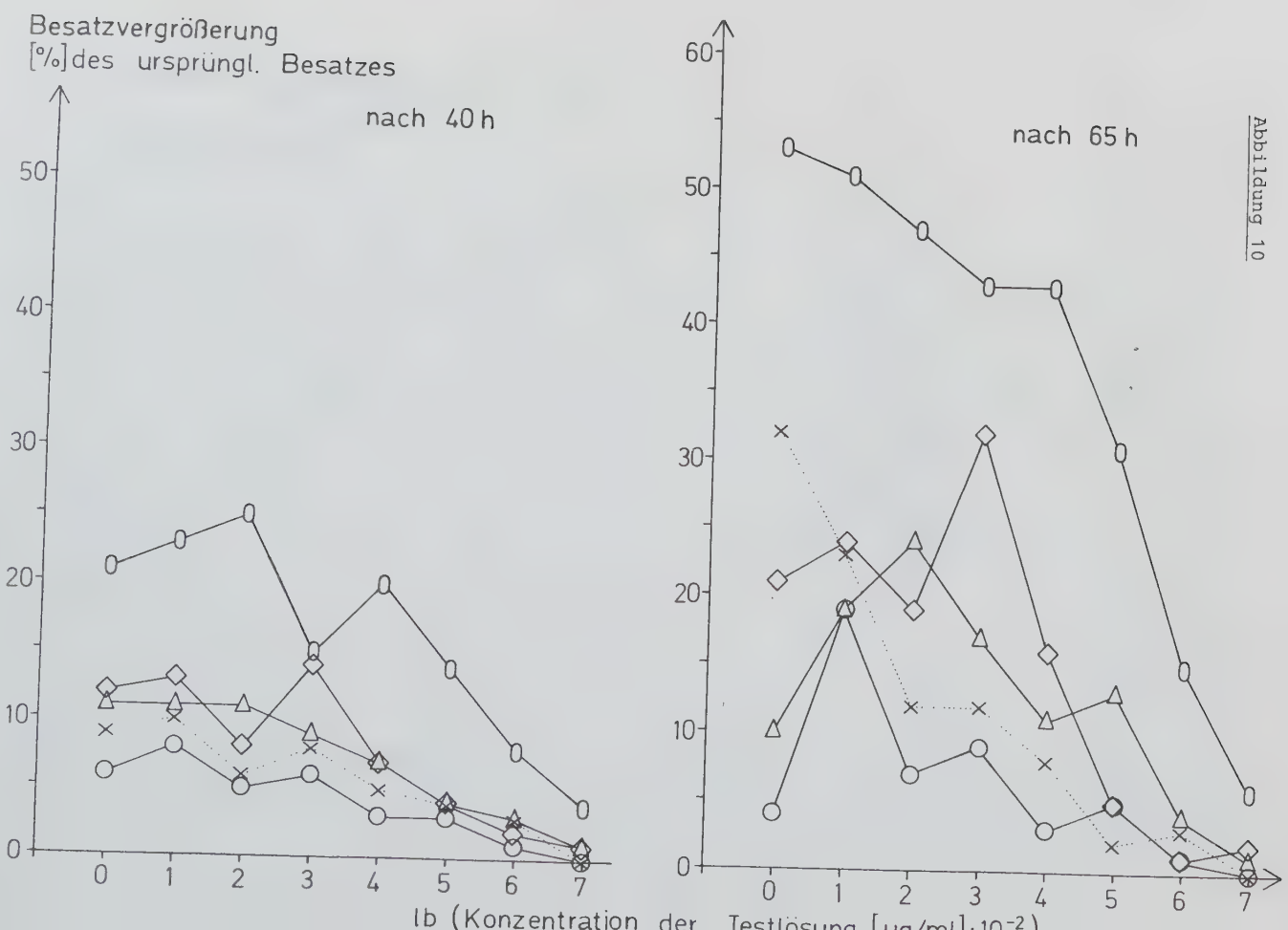


Abbildung 10

4.4.1.4. Synergismus - Untersuchung

Vergleicht man die im biologischen Test erreichten Wirksamkeiten mit den gaschromatographisch bestimmten Pyrethrin I-Gehalten (s. Tab. 6), so findet man keine Übereinstimmung. Die Gehalte sind jedoch mit 0,03 bis 0,05 % so gering, daß eine genaue Quantitätsangabe mittels Gaschromatographie nicht möglich ist und die gefundenen Schwankungen als unspezifisch anzusehen sind.

Die EC_{95} für Spruzit liegt bei 4,5 µg Pyrethroiden pro ml Testlösung. Rechnet man die EC_{95} des wirksamsten Öles, 1530 µg pro ml, zurück auf einen Pyrethringehalt von 0,05 %, so ergibt sich ein EC_{95}-Wert von 0,76 µg ai pro ml. Dieser niedrige Wert gab Anlaß zu der Vermutung, daß die Insektizidwirkung des Balsamkrautöls möglicherweise nicht allein durch Pyrethrin I verursacht wird. Da (-)-Carvon Hauptbestandteil des Öls ist, lag es nahe, die Kombination Pyrethrin/(-)-Carvon auf ein synergistisches Zusammenwirken hin zu untersuchen.

4.4.1.4.1. Definition des Begriffes Synergismus

Meist wird unter synergistischer Wirkung einer Substanz S_2 die "Potenzierung" der Wirkung einer anderen Substanz S_1 verstanden. Additivität dagegen wird lediglich als Erhöhung der Wirkung der Substanz S_1 um höchstens den Betrag, den Substanz S_2 auch allein bewirken würde, angesehen.
Eine neue, systematische Definition geben Unkelbach und Wolf (1985). Danach wirkt die Dosis z_2 einer Substanz S_2 gegenüber Dosis z_1 einer Substanz S_1 in einer Mischung synergistisch, wenn bei Anwendung von S_1 allein die zur Mischung wirkungsäquivalente Dosis z_1* größer ist als z_1. Man bezeichnet die Dosis z_2 von S_2 als inert gegenüber z_1 von S_1, wenn man von S_1 allein genausoviel benötigt wie in der Mischung und als antagonistisch, wenn man von S_1 allein weniger als in Mischung mit S_2 benötigt, um die gleiche Wirkung zu erzielen.

Anders ausgedrückt: z_2 von S_2 wirkt bezüglich z_1 von S_1

$$\left.\begin{array}{l}\text{inert}\\ \text{synergistisch}\\ \text{antagonistisch}\end{array}\right\} \text{ genau dann, wenn } \frac{z_1}{z_1^*} \left\{\begin{array}{l}=1\\ <1\\ >1\end{array}\right.$$

Die Autoren spezifizieren den Begriff Additivität folgendermaßen: existieren zur Kombination (z_1, z_2) der Substanzen S_1 und S_2 eindeutige wirkungsäquivalente Dosen z_1^* von S_1 und z_2^* von S_2, so nennt man die Kombination (z_1, z_2)

$$\left.\begin{array}{l}\text{additiv}\\ \text{subadditiv}\\ \text{superadditiv}\end{array}\right\} \text{ falls } \frac{z_1}{z_1^*} + \frac{z_2}{z_2^*} \left\{\begin{array}{l}=1\\ >1\\ <1\end{array}\right.$$

Demnach ist jede additive und erst recht jede superadditive (= "potenzierende") Wirkung synergistisch schlechthin; denn wenn die Summe von $\frac{z_1}{z_1^*}$ und $\frac{z_2}{z_2^*} \leq 1$ ist, muß auch jeder einzelne Summand <1 sein. Subadditive Mischungen können dagegen sowohl synergistisch als auch antagonistisch oder inert wirken. Zur Veranschaulichung des Sachverhalts dient Abbildung 11.

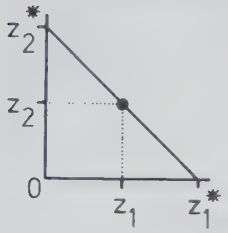
4.4.1.4.2. Ergebnisse der Synergismus-Untersuchung

Die hier angewandte Methode von Chen und Ensor (1953) arbeitet ebenfalls mit der in Abb. 11 gezeigten graphischen Darstellung. Zur Benennung der gefundenen Effekte werden die Definitionen von Unkelbach und Wolf benutzt.

(-)-Carvon ist in den Blattölen von C. balsamita mit wechselnden Anteilen vertreten. Man findet im Frühjahr geringere Carvongehalte als im Sommer (s. hierzu Strobel, 1987). In den hier verwendeten Ölen bestimmte man gaschromatographisch folgende Carvongehalte: Mai 40,6 %; Juni 39,8 %; Juli 46,2 %; August 43,9 %; Oktober 45,4 %.
Legt man einen Pyrethrin I-Gehalt von 0,05 % zugrunde, so liegen die Mischungsverhältnisse Pyrethrin I: (-)-Carvon im Bereich

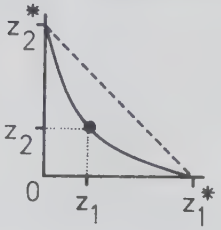
Abbildung 11: Graphische Darstellung der Dosisverhältnisse bei den verschiedenen Varianten von Additivität (nach Unkelbach und Wolf, 1985, leicht verändert und ergänzt).

streng additiv



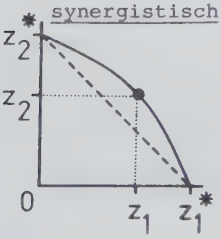
die Kombination (z_1, z_2) liegt auf einer Geraden (Linie gleicher Wirkung = Isobole) mit z_1* und z_2*; setzt man z_1* und z_2* gleich 1, so ist $z_1 + z_2$ ebenfalls 1.

superadditiv



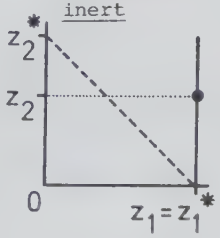
die Isobole liegt unter der Additivitätsgeraden, man benötigt insgesamt eine geringere Dosis, um die gleiche Wirkung zu erzielen.
$z_1 + z_2 < 1$

subadditiv, synergistisch



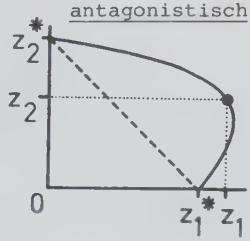
man benötigt insgesamt eine höhere Dosis, aber es gilt immer noch $z_1 < z_1$* und $z_2 < z_2$*.

subadditiv, inert



z_2 hat keinen Einfluß auf die Wirkung von z_1; $z_1 = z_1$*.

subadditiv, antagonistisch



z_2 verringert die Wirkung von z_1; man benötigt eine höhere Dosis, wobei $z_1 > z_1$*.

1 : 796 bis 1 : 924. Für die Versuche wurde das Verhältnis 1 : 850 gewählt. (-)-Carvon wurde von der Fa. Roth, Karlsruhe, 99 % rein, bezogen. Da Pyrethrin I als Reinsubstanz nicht erhältlich ist, griff man auf einen Pyrethrum-Standard der Fa. Hoechst, Frankfurt, zurück, worin alle natürlichen Pyrethroide enthalten sind. Zum Testverfahren siehe 3.3.1.2. Abbildung 12 zeigt die Lage des EC_{50}-Wertes der Kombination in einer Auftragung der EC_{50} von (-)-Carvon gegen die EC_{50} der natürlichen Pyrethroide. Der EC_{50}-Wert der Kombination liegt einschließlich seiner Konfidenzgrenzen deutlich unter der Additivitätsgeraden, d.h. die Mischung wirkt synergistisch. In Tabelle 8 sind die EC_{50}-Werte und ihre Konfidenzgrenzen aufgeführt.

Tabelle 8: Aus den Dosis-Effekt-Geraden von (-)-Carvon, natürlichen Pyrethroiden und der Kombination 1 : 850 entnommene EC_{50}-Werte mit Konfidenzgrenzen.

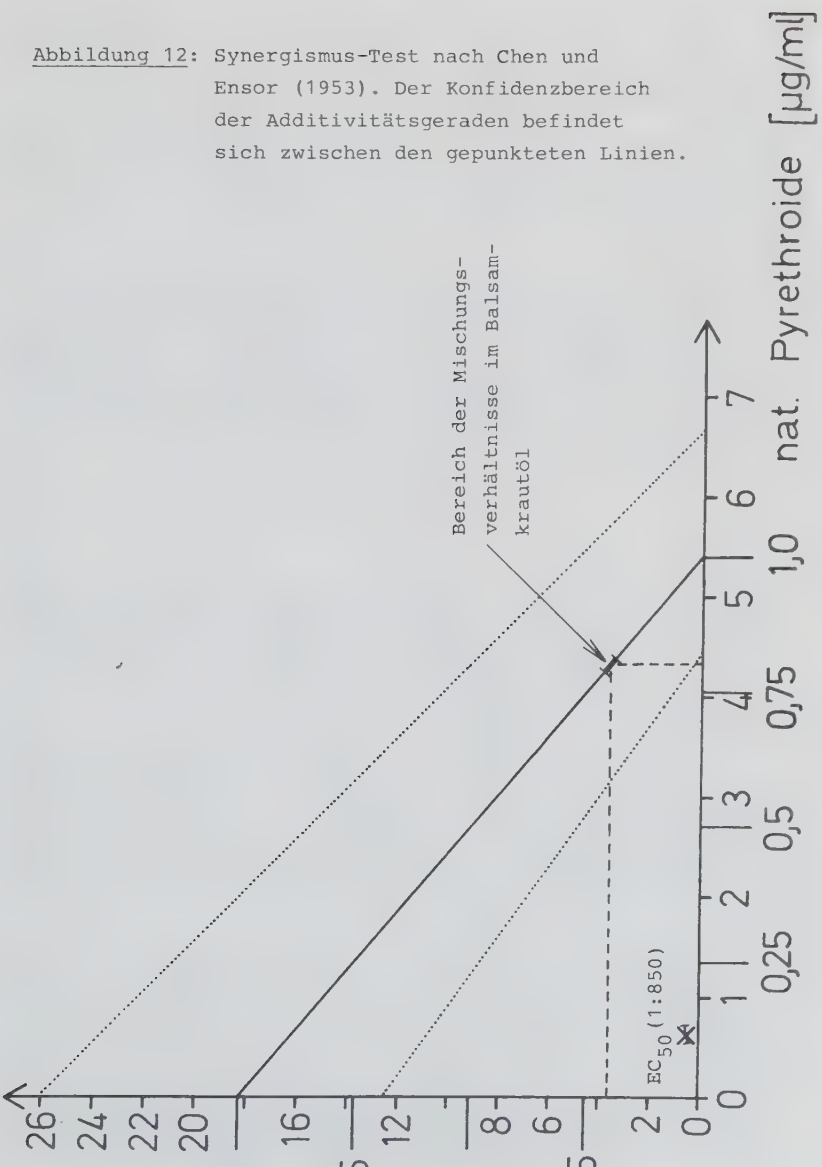
Testsubstanz	EC_{50}	Konfidenzgrenzen
(-)-Carvon	18,3 mg/ml	12,5 - 26,0 mg/ml[+]
nat. Pyrethroide	5,4 µg/ml	4,4 - 6,7 µg/ml
Komb. 1 : 850	600 ng P. + 510 µg C./ml	530 ng P. + 450 µg C./ml – 680 ng P. + 580 µg C./ml

[+] da nur die zwei höchsten Konzentrationen der Carvon-Verdünnungsreihe Befallsminderungen hervorriefen, war keine genaue Berechnung der Konfidenzgrenzen möglich. Es wurden daher die Spannweiten durch eine Gerade verbunden und als Konfidenzgrenzen angenommen.

Setzt man - gemäß Unkelbach und Wolf - die EC_{50} der natürlichen Pyrethroide gleich z_1* und die EC_{50} von (-)-Carvon gleich z_2*, so erhält man für die Kombination 1 : 850

$$\frac{EC_{50}\text{ (nat. Pyr. in d. Komb.)}}{EC_{50}\text{ (nat. Pyr. allein)}} + \frac{EC_{50}\text{ (-Carvon in d. Komb.)}}{EC_{50}\text{ (-Carvon allein)}} =$$

Abbildung 12: Synergismus-Test nach Chen und Ensor (1953). Der Konfidenzbereich der Additivitätsgeraden befindet sich zwischen den gepunkteten Linien.



$$= \frac{0{,}6\ \mu g/ml}{5{,}4\ \mu g/ml} + \frac{510\ \mu g/ml}{18300\ \mu g/ml} = 0{,}11 + 0{,}028 = 0{,}14 < 1$$

Das bedeutet, die Mischung 1 : 850 wirkt superadditiv auf dem EC_{50}-Niveau. Mit der Methode von Chen und Ensor ist eine Synergismus-Prüfung nur auf diesem Niveau möglich.

In Abbildung 13 sind die Dosis-Effekt-Geraden der natürlichen Pyrethroide allein und der Pyrethroide in der Kombination 1 : 850 dargestellt. Betrachtet man die Gerade auf dem EC_{95}-Niveau, so findet man für die Pyrethroide allein eine EC_{95} von 113 µg/ml, für die Pyrethroide in der Kombination eine EC_{95} von 7,9 µg/ml. Bildet man den Quotienten, ergibt sich:

$$\frac{7{,}9\ \mu g/ml}{113\ \mu g/ml} = 0{,}07 < 1$$

(-)-Carvon wirkt also auch auf dem EC_{95}-Niveau synergistisch gegenüber natürlichen Pyrethroiden. Es muß jedoch dazu bemerkt werden, daß Wirksamkeiten von 95 % erst bei den zwei konzentriertesten Lösungen auftraten, und daß diese Proben phytotoxische Nebeneffekte zeigten.

Es erschien nun wissenswert , ob das im Balsamkrautöl vorgefundene Mischungsverhältnis von etwa 1 : 850 optimal für die Aphizidwirkung ist. Falls die gleiche Wirkung mit einem geringeren (-)-Carvon-Anteil erreichbar wäre, könnten phytotoxische Nebeneffekte ausgeschaltet werden.

Um dies abzuklären, wurden sechs Mischungsverhältnisse zwischen 1 : 50 und 1 : 10.000 auf dem EC_{50}-Niveau getestet (Dauertest, drei Replikate). Die dazu erforderlichen Einwaagen von Carvon und Pyrethroiden wurden anhand der Auftragung in Abb. 12 bestimmt. Tabelle 9 gibt die Mischungsverhältnisse, die für eine 50 %-ige Wirkung erforderlichen Mengen, die erzielten Befallsminderungen (Mittelwerte) und die Phytotoxizität der Mischungen an.

Abbildung 13: Dosis-Effekt-Linien der natürlichen Pyrethroide, allein (●—●) und in der Mischung 1 : 850 (○—○)

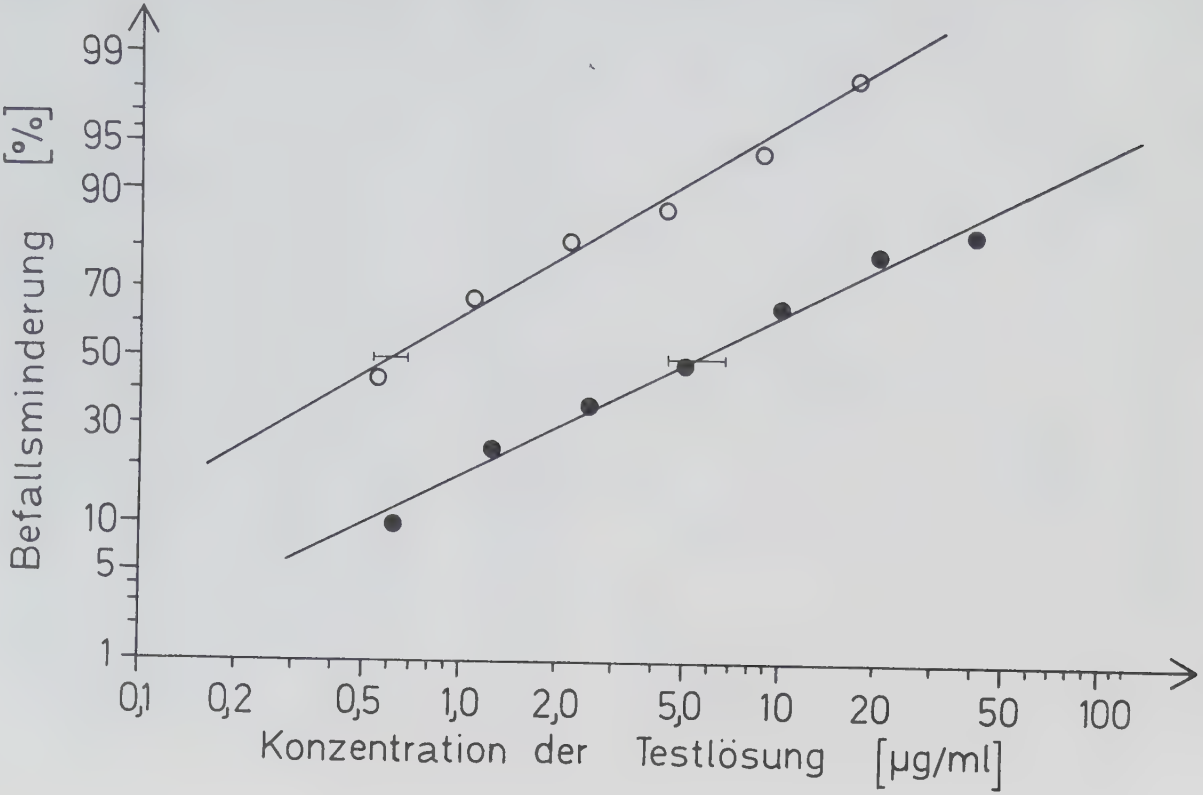


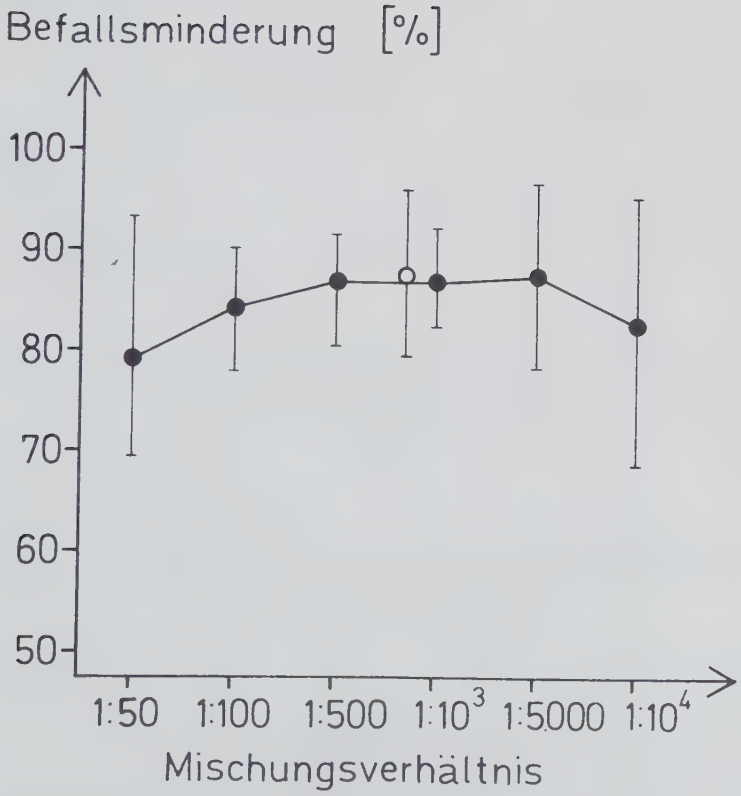
Tabelle 9: Ergebnis der Testreihe mit verschiedenen Mischungsverhältnissen von natürlichen Pyrethroiden und (-)-Carvon

Mischungsverh.	Einwaage Pyr.:Carv. (µg/ml)	Befallsmind. (%)	Phytotoxizität
1 : 50	5,30 : 265	79,1	keine
1 : 100	5,23 : 520	84,3	keine
1 : 500	4,70 : 2.350	85,8	keine
1 : 1.000	4,17 : 4.170	86,8	wenig
1 : 5.000	2,18 : 10.880	88,4	0 - 40 % welk
1 : 10.000	1,36 : 13.620	82,5	0 - 40 % welk
Kontrolle (wäßr. TW80Lösg.)		+26,7	keine
Kontrolle (-)-Carvon	13.600	43,2	0 - 40 % welk

In Abbildung 14 sind die mittleren Befallsminderungen mit ihren Spannweiten (höchstes und niedrigstes Testergebnis) in Abhängigkeit vom Mischungsverhältnis und der Wert aus dem Synergismus-Experiment mit der Mischung 1 : 850 aufgezeichnet.

Zunächst ist erkennbar, daß alle getesteten Mischungsverhältnisse synergistisch wirken, da alle über 50 % wirksam sind. Außerdem findet man keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Mischungsverhältnissen, auch der frühere Testwert aus dem Dosis-Effekt-Versuch mit der Mischung 1 : 850 gliedert sich gut in die neue Testreihe ein. Zwar erhielt man mit der Kombination 1 : 50 die mit 79,1 % geringste Befallsminderung, doch beträgt die Differenz zum höchsten Wert, 88,4 %, der mit der Mischung 1 : 5000 erreicht wurde, nur 9,3 %. Bei Anwendung von carvon-ärmeren Mischungen fallen phytotoxische Nebenwirkungen weg.
Zur genaueren Feststellung der Wirksamkeit der 1:50-Mischung wäre ein Dosis-Effekt-Versuch erforderlich. Man könnte die Test-

Abbildung 14: Wirksamkeiten von Pyrethrum-(-)Carvon-Mischungen mit steigendem Carvon-Anteil; ebenfalls eingetragen: der Wert aus dem Synergismus-Test mit der Mischung 1 : 850 ⊖ .

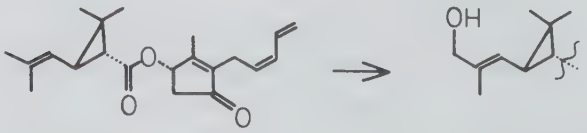


reihe auch mit noch geringeren Carvon-Anteilen fortsetzen. In den mit Piperonylbutoxid versetzten, käuflichen Pyrethrum-Präparaten liegen Mischungsverhältnisse zwischen 1 : 3,2 und 1 : 10 (Pyrethrum: Piperonylbutoxid) vor (Biol. Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft, 1984).

4.4.1.4.3. Diskussion zur Wirkungsweise von Pyrethroid-Synergisten

Man kann verschiedene Arten des Synergismus unterscheiden. Echte Synergisten sind selbst nicht oder kaum toxisch, verstärken aber die Wirkung eines Giftes, indem sie Enzyme inhibieren, die am Detoxifizierungsprozeß beteiligt sind. Als Pseudosynergisten bezeichnet man Substanzen, die die Giftwirkung verbessern, indem sie konservierend wirken oder die Penetranz des Wirkstoffs durch Erhöhung der Haftfähigkeit oder der Löslichkeit beschleunigen. Auch Mischungen von Giften, die an unterschiedlichen physiologischen Systemen angreifen, zeigen synergistische Wirkung (Schmidt, 1986).

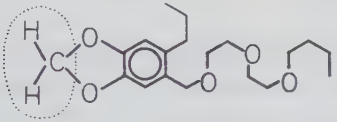
Der Abbau und damit die Detoxifizierung von Pyrethroiden in Insekten erfolgt hauptsächlich durch Hydroxilierung der trans-Methylgruppe der Isobutenylkette in der Chrysanthemumsäure (s. unten) und anschließende Weiterreaktion (Yamamoto et al., 1969).



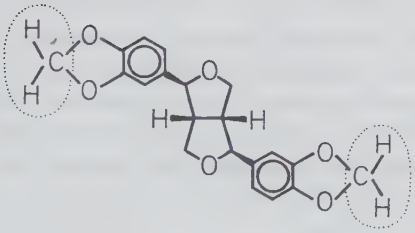
Pyrethrin I

Diese Reaktion wird von der mikrosomalen Oxidase (vergl. 2.2.1.) im Mitteldarm der Insekten katalysiert.
Der meistverwendete Synergist für Pyrethroide ist Piperonylbutoxid, das aus Safrol gewonnen wird. Die Wirkungsweise besteht

in einer Hemmung der mikrosomalen Oxidase am terminalen Enzym Cytochrom P450, indem es einen Komplex mit dem Enzym bildet. Wahrscheinlich handelt es sich um eine kompetitive Hemmung, d.h. Piperonylbutoxid wird vom Enzym als Substrat akzeptiert und blockiert damit den Abbau des Giftes (Casida, 1970). Essentiell für die Aktivität als Inhibitor ist die Methylengruppe am Methylendioxibenzolring (s. unten). Auch Sesamin, ein natürlicher Bestandteil von Sesamöl, das ebenfalls synergistisch mit Pyrethroiden wirkt, besitzt dieses Ringsystem. Die Seitenkette ist insofern von Bedeutung, als sie den Molekülen eine ausreichende Lipophilität verleihen muß, so daß sie zum Wirkort vordringen können (Wilkinson et al., 1966).



Piperonylbutoxid



(+)-Sesamin

Die Gruppe der Methylendioxibenzol-Verbindungen, wozu auch Komponenten ätherischer Öle wie z.B. Myristizin (in Petersilieöl, Muskatöl) und Apiol (in Petersilieöl, Meerfenchelöl) gehören, stellt die heute meistverwendeten Synergisten.

Myristizin und Apiol kommen auch im ätherischen Öl des Dill vor und wirken synergistisch gegenüber Carbaryl, Parathion und Pyrethrinen (Lichtenstein et al., 1974 und Ref. dort). Die Autoren fanden auch für einen weiteren Bestandteil des Dillöls, das (+)-Carvon synergistische Aktivität gegenüber Carbaryl, Carbofuran und Parathion. (+)-Carvon mußte jedoch in etwa 100-fach

(bei Parathion) bzw. etwa 3000-fach (bei Carbaryl) höherer Dosierung angewendet werden als Myristizin und Apiol. Untersuchungen von Fuhremann und Lichtenstein (1979) zeigten, daß nach der Fütterung von (+)-Carvon an Stubenfliegen Parathion-Behandlungen toxischer wirkten. Die Autoren konnten nachweisen, daß die Ursache dafür ein vermehrter Abbau von Parathion zu Paraoxon - dem eigentlichen Insektizid (Cholinesteraseinhibitor) - war. Das (+)-Carvon scheint dabei einen Einfluß auf die abbauenden Enzyme auszuüben. Pyrethrine wurden von Lichtenstein et al. nicht mit (+)-Carvon getestet. Zumindest kann man deren Ergebnisse als Bestätigung der synergistischen Eigenschaften von Carvon auffassen, wie sie hier mit (-)-Carvon und natürlichen Pyrethroiden gefunden wurden.

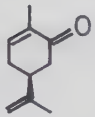
Weitere Komponenten ätherischer Öle mit Synergisten-Eigenschaften, die nicht zu den Methylendioxibenzol-Verbindungen zählen, sind bekannt. Marcus und Lichtenstein (1979) untersuchten Anisölbestandteile und fanden, daß trans-Anethol und Anisaldehyd die Toxizität von sechs Insektiziden (Parathion, Paraoxon, Carbofuran, Carbaryl, DDT und Pyrethrum) steigern. Da diese Gifte unterschiedliche physiologische Systeme angreifen, erschien es unwahrscheinlich, daß Anethol und Anisaldehyd ein bestimmtes detoxifizierendes Enzym hemmen. In einem Versuch mit Paraoxon konnten die Autoren zeigen, daß eine Anethol-haltige Diät sowohl das Eindringen des Giftes fördert als auch seinen Abbau verzögert.

Ein anderer Abbauweg für Pyrethroide in Insekten verläuft über Carboxylesterasen. Sie hydrolysieren die Esterbindung zwischen dem Säure- und dem Alkoholteil (Soderlund et al., 1983). Manche Organophosphate sind Carboxylesterase-Inhibitoren, und dies ist der Grund für ihren erfolgreichen Einsatz in Insektizidmischungen (Brattsten et al., 1986).

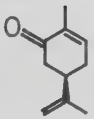
Abbildung 15: Komponenten ätherischer Öle mit synergistischen Eigenschaften

trans-Anethol

p-Anisaldehyd



(+)-Carvon



(-)-Carvon

4.4.1.5. Freilandversuch

Zur Anlage des Freilandversuches siehe 3.3.1.3.
Der erste Befall durch Aphis fabae stellte sich 8 Tage nach Keimung der Bohnen ein. Die Wuchshöhe der Bohnenpflanzen betrug zu diesem Zeitpunkt 9 bis 12 cm, die des Balsamkrauts 15 bis 30 cm. Bei der 5. Kontrolle waren die Bohnen 30 bis 45 cm hoch und hatten Blütenknospen angesetzt, die ebenfalls stark besiedelt wurden, das Balsamkraut hatte eine Höhe von 30 bis 55 cm erreicht. Die ersten nennenswerten Befälle mit Acyrthosiphon pisum fanden sich bei der 6. Zählung, als bereits die ersten A. fabae-Kolonien verfielen. Bei der letzten (11.) Zählung erreichten die Bohnen 50 bis 90 cm, das Balsamkraut 70 bis 130 cm. Es waren kaum noch A. fabae vorhanden, und der Befall mit A. pisum ging ebenfalls zurück. Tabelle 10 gibt die Anzahl der jeweils ausgewerteten Reihen (mit je 8 Pflanzen) und die Befallswerte während des Kontrollzeitraumes an. Es handelt sich dabei um Mittelwerte. Im Befall der einzelnen Pflanzen derselben Reihe waren stets große Schwankungen zu beobachten. Die Standardabweichungen waren daher - besonders bei A. fabae - hoch, sie betrugen das ein- bis zweifache des Mittelwertes.

Tabelle 10: Befall von Dicken Bohnen mit A. fabae und A. pisum in Reinkultur bzw. in Mischkultur mit Chrysanthemum balsamita

Kontrolldatum	Zahl d.kontr. Reihen (je 8 Pflanzen)	mittl. Befall mit A.fabae pro Pfl.		mittl. Befall mit A.pisum pro Pfl.	
		Reinkult.	Mischk.	Reinkult.	Mischk.
27.5.	5	9	11	0	0
31.5.	4	13	22	0	0
4.6.	4	14	38	1	1
11.6.	4	62	84	1	1
19.6.	4	215	459	1	1
27.6.	3	573	597	4	4
4.7.	2	479	179	123	17
11.7.	2,25	10	9	114	39
18.7.	2	6	45	141	40
25.7.	1,5	13	9	85	71
2.8.	2	2	1	17	18

Abbildung 16 zeigt den Befallsverlauf im Kontrollzeitraum. Es ist offensichtlich, daß eine Mischkultur von Dicken Bohnen mit Balsamkraut keinen Schutz vor den Bohnenschädlinen A. fabae und A. pisum bietet. Im Versuchsbeet wurden sogar schneller hohe Befallswerte erreicht als im Kontrollbeet. Dies ist möglicherweise auf die Aktivität von Ameisen zurückzuführen, die in den ersten Wochen gerade in der Zwischenpflanzung in größerer Zahl auftraten (s. Tab. 11). Die Befallsmaxima waren in beiden Beeten etwa gleich hoch.

An nützlichen Arthropoden wurden vor allem die Marienkäfer Coccinella septempunctata und Propylaea quatuordecimpunctata und deren Larven sowie Syrphidenlarven (Epistrophe balteata) und verschiedene Spinnen gefunden. Seltener waren Ohrwürmer und räuberische Käfer zu beobachten. Gegen Ende des Kontrollzeitraumes konnten auch einige Mumien von parasitierten A. pisum

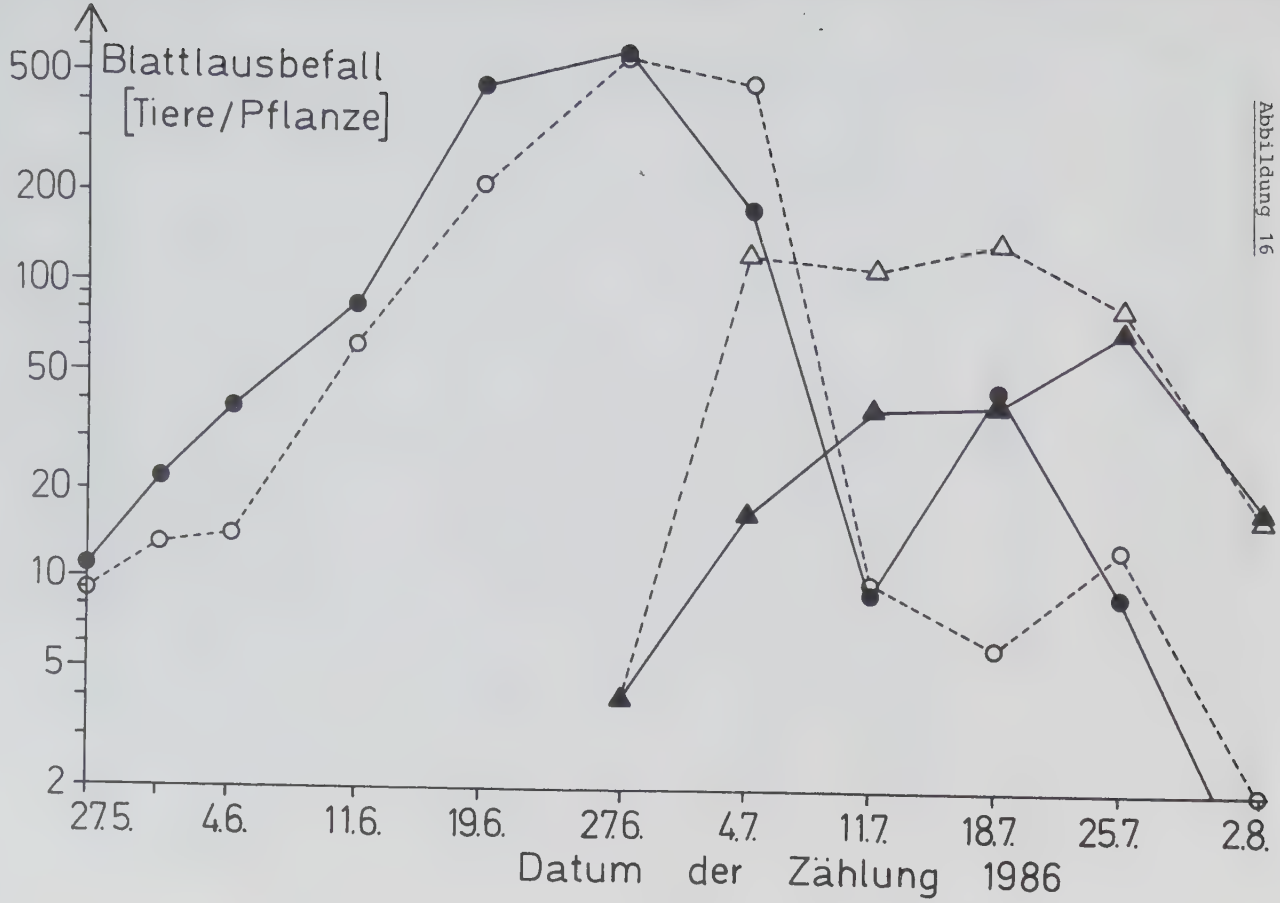


Abbildung 16

Abbildung 16. S. 91: Befallsverlauf bei Dicken Bohnen im Freilandversuch 1986. Befall mit A. fabae in Mischkultur ●——● bzw. Reinkultur ○- - -○ Befall mit A. pisum in Mischkultur ▲——▲ bzw. Reinkultur △- - -△.

festgestellt werden. Tabelle 11 gibt einen Überblick über die im Kontrollzeitraum am häufigsten aufgetretenen Arthropoden.

Tabelle 11: Im Freilandversuch 1986 beobachtete Arthropoden

Kontrolldatum	Formiciden (pro Pfl.-reihe)		Nutzarthropoden (Tiere pro Pflanzreihe) Coccinelliden		Syrphiden		Arachniden	
	Kont.	Misch.	Kontr.	Mischk.	Kontr.	Mischk.	Kontr.	Mischk.
27.5.	1,6	9,8	0,2	0	0	0	0	0
31.5.	1,5	8,3	0,3	0	0	0	0	0
4.6.	0	9,0	0,5	0	0	0	0	0
11.6.	1,0	11	0,8	2,0	0	0	0	0
19.6.	1,5	7,0	1,0	2,8	0	0	1,0	0,8
27.6.	0,7	3,7	6,3	7,7	1,3	0,7	1,0	0
4.7.	2,0	2,0	7,5	1,0	6,0	2,5	1,5	0,5
11.7.	0,9	0,9	1,0	1,5	1,5	1,5	0,7	0,7
18.7.	0,5	0,5	0,5	0	3,0	9,5	0	2,0
25.7.	1,3	1,0	2,7	1,3	2,0	0	0,7	0
2.8.	1,5	2,0	4,0	2,0	4,0	0	1,5	3,0

Die Anzahl der im Kontrollbeet und in der Mischkultur angetroffenen Nutzarthropoden betreffend konnten keine bedeutenden Unterschiede festgestellt werden.
Der Ertrag an Bohnensamen betrug in der Kontrolle 1,9 kg, in der Zwischenpflanzung 1,4 kg.

Da der "Duftmantel" des Balsamkrautes hauptsächlich von (-)-Carvon geprägt ist, könnte man so vorgehen, in der Literatur ge-

zielt nach Pflanzenschädlingen zu suchen, für die eine Repellent-Wirkung von Carvon nachgewiesen wurde (siehe Panasiuk, 1984). Mischkulturversuche, die auf dieser Grundlage mit Balsamkraut vorgenommen würden, könnten bessere Resultate liefern.

4.4.1.6. Tests mit dem Mexikanischen Bohnenkäfer (Epilachna varivestis)

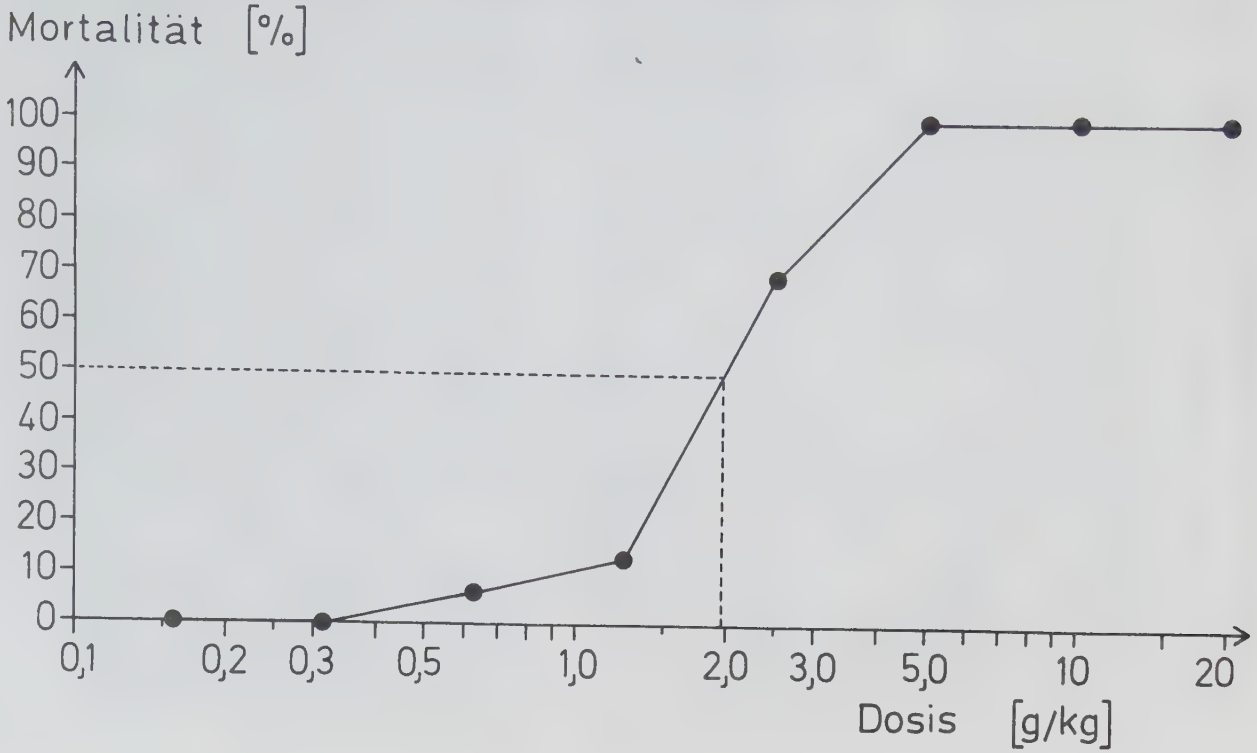
Zur Ergänzung der Ergebnisse mit den relativ empfindlichen, weichhäutigen Blattläusen wurde eine Testreihe mit E. varivestis angeschlossen, der durch seine dickere Cuticula besser geschützt erschien.

Das durchschnittliche Gewicht der Käfer betrug um 40 mg, wobei weibliche Tiere stets etwas schwerer waren als männliche. Eine Verdünnungsreihe eines Blattöles aus der Maiernte wurde mit 8 Dosen zwischen 156 mg pro kg und 20 g pro kg Körpergewicht mit je 8 Testtieren zweimal getestet. Das Ergebnis der Versuche ist in Tabelle 12 zusammengefaßt und in Abbildung 17 dargestellt. Als Verhaltensanomalien stellten sich meist Erbrechen, unkontrollierte, zittrige Bewegungen, Rückenlage, aus der sich die Tiere aus eigener Kraft nicht aufrichten konnten, sowie Ausstrecken der Flügel ein. Das Fraßverhalten war bei niedrigen Dosen eingeschränkt, normalisierte sich aber nach 65 h. Bei den drei höchsten Dosierungen fraßen die Versuchstiere überhaupt nicht.
Die LD_{50} lag bei 1,96 g Balsamkrautöl pro kg Käfergewicht.

Tabelle 12: Insektizid-Test von C. balsamita Blattöl mit E. varivestis. Angegeben ist jeweils die Anzahl der Tiere mit bestimmten Verhaltensmerkmalen. Legende: n = normal, w = wenig, RL = Rückenlage, uB = unkontrollierte Bewegung, kB = keine Bewegung, Fa = Flügel ausgestreckt.

Versuchslösung	nach 16 h						nach 40 h						nach 65 h						% Mortalität
	tot	Lage	Flügel	Bewegung	Erbrech.	Fraß	tot	Lage	Flügel	Bewegung	Eiabl.	Fraß	tot	Lage	Flügel	Bewegung	Eiabl.	Fraß	
Kontrolle (wäßr. TWEEN-80-Lösung)	0	n	n	n	0	14+, 2w	0	n	n	n	1	16+	0	n	n	n	4	16+	0
C.bals.Blattöl (Ernte Mai)																			
0,16 g/kg	0	n	n	n	0	13+, 2w 1-	0	n	n	n	1	16+	0	n	n	n	5	16+	0
0,31 g/kg	0	n	n	n	2	10+, 5w 1-	0	n	n	n	2	16+	0	n	n	n	3	16+	0
0,63 g/kg	0	3RL	n	3uB 1 putzt	0	8+, 1w 7-	0	1RL	n	1uB	4	15+, 1-	1	n	n	15n	6	15+	6
1,25 g/kg	0	6RL	n	9uB 1 entkommen	8	3+, 3w 9-	0	1RL	n	1kB 1uB 13n	1	12+, 1w 2-	2	n	n	1uB 12n	3	13+	13
2,5 g/kg	1	8RL	6Fa	6uB 8kB 1 entkommen	12	1w, 14-	7	5RL	7Fa	2kB 4uB 2n	0	3+, 2w	11	4n	4n	4n	0	4+	69
5,0 g/kg	4	14RL	7Fa	6uB 6kB	14	16-	8	7RL	7Fa	8uB	0	16-	-	-	-	-	-	-	100
10 g/kg	5	11RL	4Fa	11uB	15	16-	13	6RL	5Fa	3uB	0	16-	-	-	-	-	-	-	100
20 g/kg	8	13RL	2Fa	8uB	15	16-	11	-	-	2uB	0	16-	-	-	-	-	-	-	100

Abbildung 17: Dosis-Effekt-Kurve von C. balsamita Blattöl bei Epilachna varivestis in halblogarithmischer Auftragung.



4.4.2. Rhus typhina L. (Essigbaum)

4.4.2.1. Systematische Stellung und Einführung

Systematische Stellung:

Abteilung:	Spermatophyta (Samenpflanzen)
Unterabt.:	Magnoliophytina (Bedecktsamer)
Klasse:	Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige)
Unterklasse:	Rosidae
Überordnung:	Rutanae
Ordnung:	Rutales
Familie:	Anacardiaceae (Sumachgewächse)
Gattung:	Rhus
Art:	Rhus typhina L. (Essigbaum)

Der Essigbaum, der auch Rhus hirta oder Rhus viridiflora benannt wurde (Hegi, 1906-08), ist in Nordamerika beheimatet und wird hierzulande oft als Ziergehölz in Gärten angepflanzt. Er wurde bisher noch nicht auf seine wasserdampfflüchtigen Bestandteile hin untersucht. Die in dieser Untersuchung verwendeten Blätter des Essigbaumes wurden in verschiedenen Gärten im Raum Erlangen gesammelt und frisch destilliert.

Rhus typhina gilt als "ungiftiger Sumach" im Gegensatz zu Rhus toxicodendron, dessen Blätter und andere Teile schon bei leichtem Hautkontakt akute Dermatitis auslösen (Frohne und Pfänder, 1982). Für diese Wirkung ist das Urushenol (= 3-(8-Pentadecenyl)-catechol) verantwortlich, das Bestandteil eines Gemisches von Brenzcatechinderivaten ist, welches als Urushiol oder Toxicodendrin bekannt ist (Roth et al., 1984). Das Vorkommen von langkettigen, alkylsubstituierten Phenolen ist charakteristisch für die Familie der Anacardiaceen. Als weiteres Beispiel sei das Cardanaol genannt, das ein Gemisch aus 3-Pentadecylphenol, 3-(8-Pentadecenyl)-phenol, 3-(8,11-Pentadecadienyl)-phenol und 3-(8,11,14-Pentadecatrienyl)-phenol darstellt (Karrer, 1958). Es wurde aus dem Pericarp von Cashew-Nüssen isoliert (Harvey und Caplan, 1941). Außerdem sind Pentadecylresorcinole im Cashew-Nußöl enthalten (Baer, 1979). Dieses Öl erwies sich bei

Untersuchungen von Wats und Bharucha (1938) als larvizid gegenüber Moskitolarven.

4.4.2.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips und Diskussion

Eine Übersicht zu den Vorversuchen gibt Tabelle 13.

Tabelle 13: Insektizidwirkung des ätherischen Öles und des Absudes aus R. typhina Blättern und phytotoxische Wirkung bei Weizen

Testlösung Konz. in mg/ml Pentan	Befallsmind. bei M. dirh. (%)	Phytotoxizität bei Weizen	Wirkung auf E. variv. (800 µg/Käfer)
ätherisches Öl			keine
2,5	49	wenige Flecke bis 5 % welk	
5,0	73	wenige Flecke bis 5 % welk	
10	92	wenige Flecke bis 10 % welk	
20	98	im Durchschn. 30 % welk	
Absud, roh	23	keine	

Obwohl zunächst die relativ hohe Phytotoxizität des Öles auffiel, wurden dünnschichtchromatographische Trennungen vorgenommen. Die Fraktionierungen und analytischen Arbeiten zur Identifizierung der Komponenten des Rhus-Destillates führte Herr Uwe Kobold durch (s. Dissertation, 1987). In Tabelle 14 sind die Inhaltsstoffe und ihre prozentualen Anteile am Öl aufgeführt. Abbildung 18 zeigt das entsprechende Gaschromatogramm. Der Trennungsgang (vier Dünnschichtchromatographien auf Kieselgel) und die Testergebnisse der Fraktionen mit M. dirhodum werden bei Kobold ausführlich behandelt. Nach der vierten Trennung

Tab.14 : Inhaltsstoffe des Wasserdampfdestillates aus Blättern von Rhus typhina, i= Retentionsindex auf SE54 fused silica, m= Massenspektroskopie, H= N.N-Dimethylhydrazon (nach Kobold, 1987)

Nr.	Verbindung	% (FID)	RI (SE54)	Identifizierung
1	n-Heptan	Spur	700	m,i
2	n-Octan	0.04	800	m,i
3	Furfural	0.03	828	m
4	Hexen-1-ol	0.72	851	m
5	n-Nonan	0.03	900	m,i
6	n-Decan	0.21	1000	m,i
7	2-Octenal	0.04	1048	m,i,H
8	Octan-1-ol	0.07	1069	m
9	p-Menthadien-7-ol	0.25	1075	m
10	Linalool	0.85	1100	m,i
11	n-Nonanal	1.31	1104	m,i,H
13	2-Nonenal	0.04	1154	m,i,H
14	Terpineol	0.25	1190	m,i
15	n-Dodecan	0.05	1200	m,i
16	n-Decanal	0.11	1206	m,i,H
19	Geraniol	0.19	1255	m,i
20	2-Decenal	0.17	1260	m,i,H
21	n-Tridecan	0.03	1300	m,i
22	n-Undecanal	0.34	1308	m,i,H
24	α-Copaen	0.66	1379	m,i
25	2-Undecenal	0.01	1380	m,i,H
28	n-Tetradecan	0.14	1400	m,i
31	n-Dodecanal	0.27	1413	m,i,H
32	Caryophyllen	6.3	1422	m,i
37	Humulen	0.1	1461	m,i
40	ß-Bergamoten	0.22	1496	m
41	n-Pentadecan	0.13	1500	m,i
42	α-Muurolen	0.5	1509	m,i

Fortsetzung Tab. 14

43	γ-Cadinen	0.63	1525	m,i
44	δ-Cadinen	2.14	1533	m,i
50	n-Dodecansäure	0.1	1562	m,i
53	n-Hexadecan	0.1	1600	m,i
58	Torreyol	0.41	1656	m
62	1-Tetradecanol	0.35	1678	m
63	n-Heptadecan	0.01	1700	m,i
64	n-Pentadecanal	0.26	1720	m,i,H
65	n-Tetradecansäure	3.22	1773	m
67	n-Octadecan	0.21	1800	m,i
69	n-Hexadecanal	0.02	1819	m,i,H
71	Hexahydrofarnesylaceton	0.38	1846	m,H
72	n-Pentadecansäure	0.08	1862	m
73	Benzylsalicylat	0.19	1881	m
75	1-Hexadecanol	0.05	1890	m
76	n-Heptadecanal	0.20	1917	m,i,H
77	Phytolisomeres	3.55	1944	m
78	n-Hexadecansäure	11.00	1973	m
79	n-Octadecanal	0.11	2012	m,i,H
80	1-Octadecanol	0.16	2090	m
81	Phytol	31.85	2110	m
84	n-Docosan	0.14	2200	m,i
85	n-Eicosanal	0.05	2229	m,i,H
86	m-Tridecenylphenol	0.02	2283	m
87	m-Tridecylphenol	0.05	2294	m
88	1-Eicosanol	3.60	2296	m
89	n-Tricosan	0.48	2300	m,i
90	n-Heneicosanal	0.02	2333	m,i,H
91	n-Tetracosan	0.26	2400	m,i
92	n-Docosanal	0.10	2430	m,i,H
93	m-Pentadecenylphenol	0.02	2495	m
94	1-Docosanol	1.70	2497	m

Fortsetzung Tab. 14

95	n-Pentacosan	2.04	2500	m,i
96	n-Tricosanal	0.11	2530	m,i,H
97	n-Hexacosan	0.15	2600	m,i
98	n-Tetracosanal	0.47	2632	m,i,H
99	n-Heptacosan	1.11	2700	m,i
100	n-Pentacosanal	0.17	2733	m,i,H
101	n-Octacosan	0.06	2800	m,i
102	n-Hexacosanal	0.71	2830	m,i,H
103	n-Nonacosan	0.20	2900	m,i
104	n-Heptacosanal	0.15	2930	m,i,H
105	n-Triacontan	0.05	3000	m,i
106	n-Octacosanal	0.30	3032	m,i,H

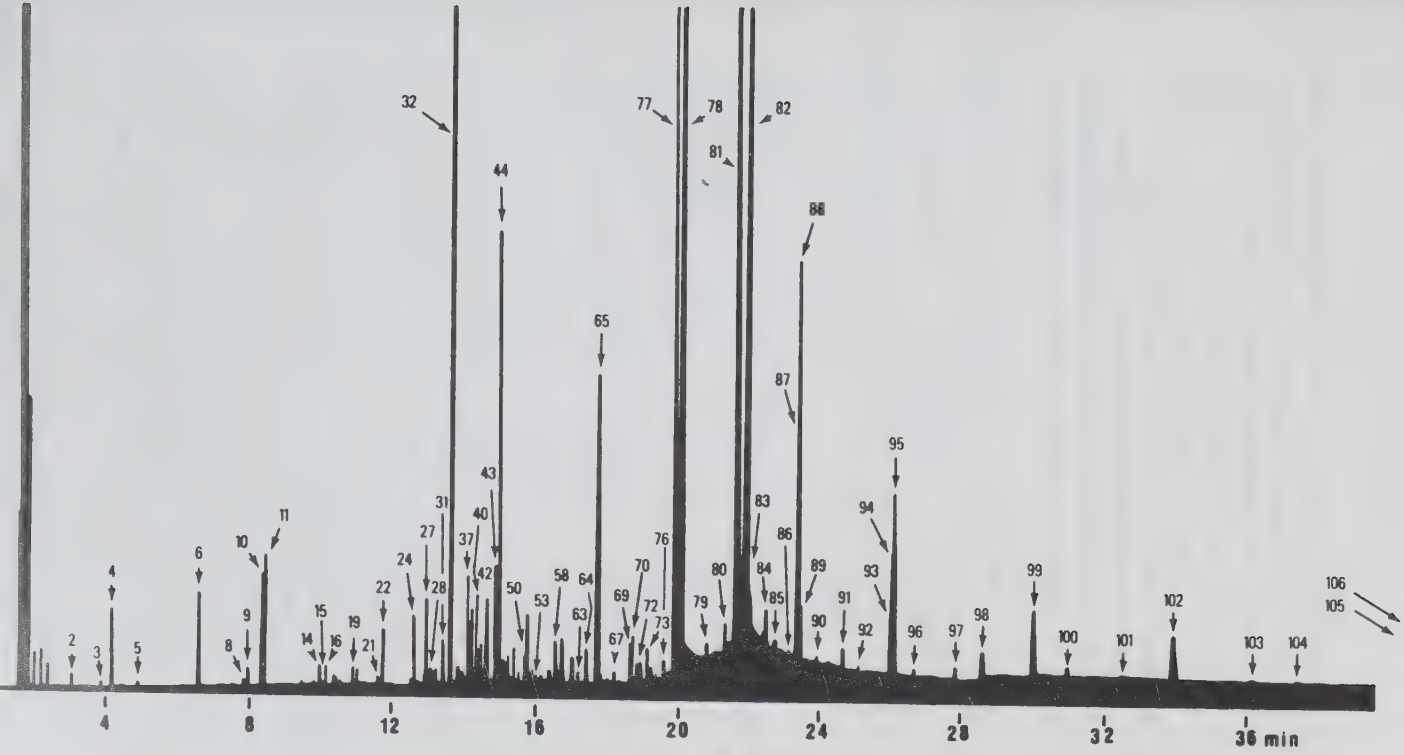


Abb. 18: Gaschromatogramm des Wasserdampfdetillates aus Blättern von Rhus typhina,
25m SE 54, 4min 60°C, 3°/min bis 260°C, N_2 22cm/s lin. Trägergasgeschwindigkeit (nach Kobold, 1987)

("d") konnten zwei Fraktionen, d_3 und d_5, unterschieden werden, die 70 % bzw. 72 % Befallsminderung erreichten. Trennung "d" und die dazugehörigen Testergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Dünnschichtchromatographische Trennung "d" des Wasserdampfdestillates aus Rhus typhina Blättern sowie Befallsminderung und Phytotoxizität im Test mit M. dirhodum; schwarz = im UV-Licht sichtbare DC-Banden

DC	Konzentration d. Testlösung (mg/ml Pentan)	Befalls-minderung (%)	Phytotoxizität
d1	5,0	48	keine
d2	5,0	44	"
d3	5,0	70	0 bis 5 % welk
d4	5,0	53	kaum
d5	5,0	72	keine
d6	5,0	55	"
d7	5,0	12	"

Die Aktivität der Fraktionen d_3 und d_5 reichte an die Wirkung des Destillates heran (vergl. Tab. 13, bei 5 mg/ml 73 %). Fraktion d_4, die alle phenolischen Komponenten enthielt, erzielte eine Befallsminderung von nur 53 %.
Aufgrund des günstigen Umstandes, daß die Hauptbestandteile der Fraktionen d_3 und d_5 fast alle als Reinsubstanzen erhältlich oder leicht synthetisierbar sind, konnte die Wirkungsweise dieser Fraktionen ausführlicher untersucht werden.

Fraktion d_3 enthielt alle im Destillat vorkommenden Aldehyde (n-Alkanale von C_9 bis C_{23}, 2-Octenal, 2-Nonenal, 2-Decenal und 2-Undecenal) und Hexahydrofarnesylaceton. Die Anteile der Alde-

hyde lagen durchwegs unter 5 %. Hexahydrofarnesylaceton (HHFA) war mit 10 % in der Fraktion vertreten.

Die n-Alkanale der Kettenlängen C_{10}, C_{12}, C_{14}, C_{16} und C_{20} wurden einzeln und in einer Mischung, HHFA in einer Verdünnungsreihe getestet. HHFA mußte am Institut synthetisiert werden (s. Kobold, 1987) und enthielt Verunreinigungen von Triphenylphosphin. Daher wurde auch dieses in entsprechender Konzentration getestet. Das Ergebnis der Versuche gibt Tabelle 16 wieder.

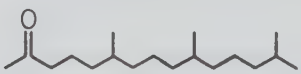
Tabelle 16: Insektizidtest von Bestandteilen der Fraktion d_3 mit M. dirhodum und Phytotoxizität bei Weizen

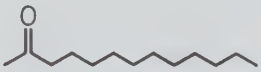
Testsubstanz, Konz. (mg/ml Pentan)		Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Decanal	0,5	36	kaum
Dodecanal,	0,5	42	wenige Flecke
Tetradecanal,	0,5	51	5 bis 15 % welk
Hexadecanal,	0,5	2	keine
Octadecanal,	0,5	33	0 bis 25 % welk
Eicosanal,	0,5	26	wenige Flecke
Aldh.-Mischung	0,5	25	0 bis 5 % welk
HHFA,	0,3	49	5 bis 40 % welk
	0,6	70	einige Flecke
	1,3	92	0 bis 25 % welk
	2,5	99	0 bis 25 % welk
Triphenylphos.	0,3	27	kaum

Tabelle 16 zeigt, daß keiner der Aldehyde an die Wirksamkeit der Fraktion heranreicht, obwohl höher dosiert wurde, als den Anteilen in der Fraktion entspräche. HHFA erreicht bei Anwendung von 0,6 mg/ml 70 % Befallsminderung. Zwar müßte diese Wirkung schon bei 0,5 mg/ml (= 10 % von 5 mg der Fraktion) zu beobachten sein, doch liegt diese Abweichung im Rahmen der Ungenauigkeit des Testverfahrens. Die Toxizität von Fraktion d_3

läßt sich also möglicherweise auf die Komponente HHFA zurückführen. Eine zweite Synthese von HHFA, die ohne Triphenylphosphin erfolgte, ergab jedoch im Test schlechtere Ergebnisse. Für eine Befallsminderung von 70 % mußten 1,3 mg HHFA pro ml aufgewendet werden. Hierzu sind also vorerst keine abschliessenden Aussagen möglich.

Im Zusammenhang mit der Struktur von HHFA (s. unten) sind die Ergebnisse von Dimock et al. (1982) interessant, die für Heliothis zea Larven 2-Tridecanon als ein natürliches Insektizid aus der wilden Tomate (Lycopersicon hirsutum) ausweisen.

Hexahydrofarnesylaceton 

2-Tridecanon 

Die Autoren stellten eine Abhängigkeit der Toxizität von 2-Methylketonen von der Kettenlänge fest (C_9 bis C_{15}), wobei die maximale Wirkung bei C_{13} und C_{14} auftrat. Die Wirkung stand somit in Korrelation zur Lipophilität der Ketone. Bei 15 C-Atomen (2-Pentadecanon) erfolgte ein deutlicher Wirkungsabfall. Die Autoren vermuten, daß sterische Effekte am Wirkort dabei eine Rolle spielen.

Fraktion d_5 enthielt die meisten der im Destillat vorkommenden Alkohole (Linalool, Geraniol, Myrcenol, Phytol, 1-Octanol, 1-Tetradecanol, 1-Hexadecanol, 1-Octadecanol, 1-Eicosanol, 1-Heneicosanol und 1-Docosanol) und Säuren (Dodecan-, Tetradecan- und Hexadecansäure) sowie Spuren von m-Pentadecenylphenol. Die Hauptbestandteile der Fraktion d_5 waren:

Phytol	25,2 %
1-Docosanol	15,8 %
Linalool	13,1 %
Hexadecansäure	12,1 %
Tetradecansäure	7,1 %
1-Tetradecanol	4,6 %
Summe der Hauptbestandteile:	77,9 %

Um zu überprüfen, ob eine dieser Substanzen für die Wirksamkeit der Fraktion verantwortlich ist, wurden die Anteile der Hauptkomponenten in der applizierten Dosis von 5 mg/ml berechnet und anschließend jede Substanz einzeln in der entsprechenden Konzentration sowie eine Mischung aller sechs tetestet. Die Mischung wurde mit 3,9 mg/ml getestet, was der Summe der sechs Hauptkomponenten-Anteile in 5 mg Fraktion entspricht. Außerdem wurden auch die einzelnen Komponenten mit 3,9 mg/ml geprüft, um zu klären, ob eine der Substanzen bei Dosiserhöhung die Wirkung der Fraktion erreicht. Das Ergebnis dieser Versuche ist Tabelle 17 zu entnehmen.

Tabelle 17: Insektizidtest mit den Hauptkomponenten der Fraktion d_5 mit M. dirhodum und Phytotoxizität bei Weizen

Testsubstanz, Konz. (mg/ml Pentan)		Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Phytol,	1,26	43	0 bis 20 % welk
	3,9	87	0 bis wen. Flecke
1-Docosanol,+	0,79	32	kaum
	3,9	19	keine
Linalool,	0,65	36	0 bis 25 % welk
	3,9	49	0 bis 25 % welk
Hexadecansäure,	0,60	27	wen. Fl. - 40 % welk
	3,9	23	0 bis wen. Flecke

+ in Ether appliziert, weil unlöslich in Pentan

Fortsetzung Tab. 17:

Tetradecansäure,	0,36	5	0 bis wen. Flecke
	3,9	25	0 bis einige Flecke
Tetradecanol,	0,23	21	wen. Fl. - 30 % welk
	3,9	28	0 bis wen. Flecke
Mischung d. 6 Komponenten	3,9	62	0 bis einige Flecke

Aus Tab. 17 ist ersichtlich, daß nur Phytol bei Dosiserhöhung die Wirksamkeit der Gesamtfraktion erreicht. In der Konzentration die ihrem Anteil an der Fraktion entspricht, wirken alle Einzelsubstanzen zu schwach, um die Aktivität der Fraktion zu erklären. Die Mischung reicht an die Wirksamkeit der Fraktion heran. Der Unterschied von 10 % zum Ergebnis von d_5 (72 %) ist nicht signifikant.

Tetradecansäure und Hexadecansäure zeigten nur geringen Einfluß auf die Getreideblattlaus. Es gibt jedoch Berichte über toxische (Dills und Meusan, 1935, bei Aphis rumicis) und deterrente Wirkungen (Sherwood et al., 1981, bei Myzus persicae) von n-Carbonsäuren auf Blattläuse. Übereinstimmend wird dabei Dodecansäure als die wirksamste Säure bezeichnet, während Säuren mit Kettenlängen von C_6 bis C_9 und von C_{13} und länger als wenig aktiv beschrieben werden (vergl. hierzu 2.4.3.,S.29). Dodecansäure ist im Rhus-Destillat zu 0,1 % enthalten. Bei Applikation von 10 mg in 1 ml Lösung entfallen also 10 µg davon auf Dodecansäure, eine Dosis, die zu gering ist, um Wirkung zu zeigen.

Trotzdem wurden Dodecansäure und einige andere Ölkomponenten mit geringen, prozentualen Anteilen, sowie Caryophyllen, das nicht in den Fraktionen d_3 oder d_5 enthalten war, geprüft. Die Testergebnisse mit diesen Substanzen sind in Tabelle 18 zusammengefaßt.

Tabelle 18: Insektizidtest mit Substanzen, die nicht oder mit nur geringen Anteilen in den Fraktionen d_3 oder d_5 enthalten sind

Testsubstanz, Konz. (mg/ml Pentan)		Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Caryophyllen,	0,63	9	kaum
Geraniol,	0,5	38	15 bis 40 % welk
1-Eicosanol,+	0,36	43	kaum
Nonanal,	0,13	17	0 bis 10 % welk
Undecenal,	0,5	22	wenige Flecke
Dodecansäure,	0,5	22	keine
m-Tridecylphenol	0,5	25	0 bis 20 % welk
m-Pentadecyl-phenol	0,5	12	wenige Flecke

+ in Ether appliziert, weil unlöslich in Pentan

Um die Vermutung, daß die Aktivität des Rhus-Öles allein auf den Bestandteilen der Fraktionen d_3 und d_5 beruht, zu prüfen, wurde eine Mischung dieser Substanzen - entsprechend ihren Anteilen am Öl - hergestellt. Im einzelnen waren dies: Nonanal, Decanal, Undecanal, Dodecanal, Hexadecanal, Octadecanal, Eicosanal, Docosanol, Tetradecansäure und Hexadecansäure. Hexahydrofarnesylaceton stand nicht in ausreichender Menge zur Verfügung. Die Mischung wurde in vier Konzentrationen zwischen 1,25 und 10,0 mg/ml getestet (Schnelltest, drei Replikate). Da Caryophyllen, das weder in Fraktion d_3 noch in d_5 enthalten war, im Destillat immerhin einen Anteil von 6,3 % einnimmt (drittgrößte Komponente nach Phytol und Hexadecansäure), wurde außerdem eine Mischung mit entsprechendem Caryophyllen-Zusatz getestet. Das Ergebnis der Versuche ist in Tabelle 19 aufgeführt.

Tabelle 19: Insektizidwirkung synthetischer Rhusöl-Mischungen auf M. dirhodum und Phytotoxizität bei Weizen

Testlösung, Konz. (mg/ml Pentan)		Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Mischung ohne Caryophyllen	1,25	39	0 bis 5 % welk
	2,5	60	wenige Flecke
	5,0	74	0 bis 5 % welk
	10,0	94	keine
Mischung mit Caryophyllen	1,25	46	wen. Fl. - 20 % welk
	2,5	60	einige Flecke
	5,0	76	0 bis 15 % welk
	10,0	91	einige Flecke

Durch Anwendung des χ^2-Anpassungstests (s. 3.5.2.) konnten die Befallsminderungswerte sowohl der Mischungen untereinander als auch mit dem nativen Rhus-Destillat verglichen und auf Homogenität geprüft werden. Es stellten sich in beiden Fällen bei gleichen Konzentrationen keine signifikanten Abweichungen zwischen den Werten heraus. Die Mischung ohne Caryophyllen schien jedoch für die Weizenhalme etwas verträglicher zu sein.

Dieses Ergebnis zeigt, daß für die Wirkung des Gesamtöles der Gehalt an HHFA (0,38 % im Öl = 19 µg HHFA in 5 mg Öl) nicht ausschlaggebend ist, obwohl es isoliert wirksamer ist als Phytol.

4.4.2.3. Synergismus-Untersuchung mit den Hauptkomponenten der Fraktion d_5 und Diskussion

Nach Unkelbach und Wolf (1985) wirkt eine Substanz synergistisch gegenüber einer anderen Substanz S_1, wenn gilt $\frac{z_1}{z_1^*} < 1$,

wobei z_1 die Dosis von S_1 in der Mischung und z_1^* die wirkungsäquivalente Dosis von S_1 allein bezeichnet. Betrachtet man Phytol als Substanz S_1 und die Summe der restlichen fünf Hauptkomponenten als möglichen Synergisten für Phytol, so müßte $z_1^*(\text{Phytol}) > z_1(\text{Phytol})$ zutreffen.
In der synthetischen d_5-Mischung (vergl. Tab. 17) waren 1,26 mg Phytol pro ml Lösung enthalten, womit eine Befallsminderung von 62 % erreicht wurde. Bei Applikation von Phytol allein müßte die Dosis definitionsgemäß mehr als 1,25 mg/ml betragen, um eine 62 %-ige Wirkung zu erzielen.
Um hierüber Aufschluß zu gewinnen, wurde eine Verdünnungsreihe von Phytol getestet (Schnelltest, drei Replikate). Die Dosis-Effekt-Abhängigkeit ist in Abbildung 19 dargestellt, die zugehörigen Werte gibt Tabelle 20 an.

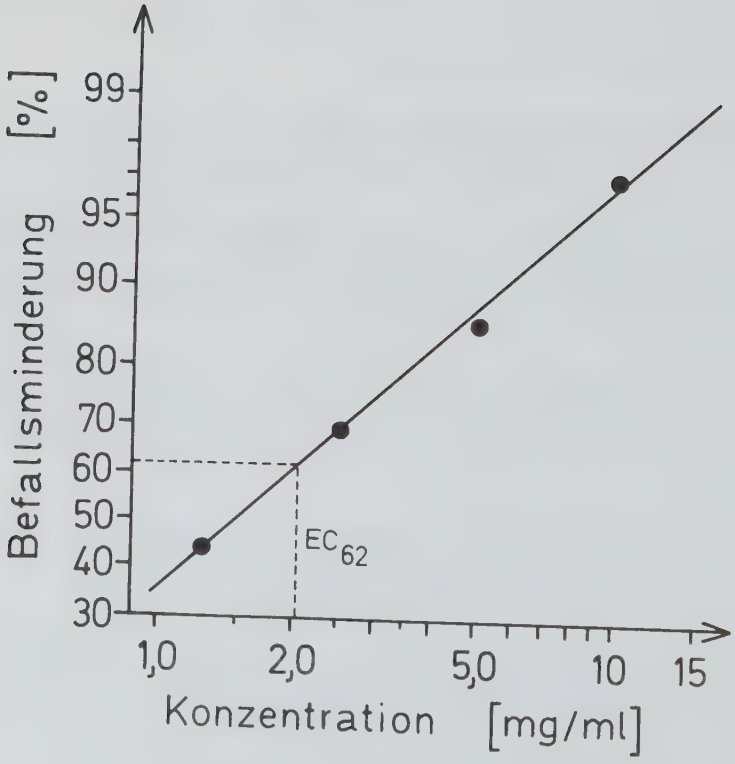
Tabelle 20: Testresultat einer Phytol-Verdünnungsreihe mit M. dirhodum und Phytotoxizität bei Weizen

Testlösung, Konz. (mg/ml Pentan)		Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Phytol,	1,25	44	0 bis einige Fl.
	2,5	69	0 bis 20 % welk
	5,0	86	0 bis 20 % welk
	10,0	97	0 bis einige Fl.

Wie aus Abbildung 19 hervorgeht, liegt die EC_{62} von Phytol bei 2,05 mg/ml. $\frac{z_1}{z_1^*}$ ist also $\frac{1{,}26 \text{ mg}}{2{,}05 \text{ mg}} = 0{,}61 < 1$.

Das heißt, das in Fraktion d_5 vorhandene Gemisch aus 1-Docosanol, Linalool, Tetra- und Hexadecansäure und 1-Tetradecanol wirkt synergistisch zu Phytol auf dem EC_{62}-Niveau. Der geringe Unterschied zwischen z_1 und z_1^* von Phytol zeigt aber, daß es sich nicht um eine superadditive Mischung handelt. Ein Ver-

Abbildung 19: Dosis-Effekt-Linie von Phytol im Schnelltest mit Metopolophium dirhodum



gleich der Testwerte von Tab. 17 und Tab. 20 zeigt, daß der gefundene Wert nicht als absolut aufzufassen ist. Man stößt hier an die Grenze der Genauigkeit des Testverfahrens. Daß der gewünschte Effekt der Wirkungsverstärkung ebensogut durch eine Dosiserhöhung von Phytol erreicht werden kann, macht deutlich, daß eine Dosiserhöhung den einfachsten Fall eines Synergismus darstellt.

Weitere Untersuchungen im Dauertestverfahren wären für genauere Aussagen notwendig und sinnvoll im Hinblick darauf, daß bei der Auswertung der Tests auffiel, daß viele Blattläuse im Stadium der Häutung starben. Stein und Klingauf (1987) fanden eine entwicklungsverzögernde Wirkung von Rhus typhina-Extrakt beim Meerrettichblattkäfer (Phaedon cochleariae). Mabry und Gill (1979) berichteten von fraßabschreckender Wirkung von Phytol aus Clerodendron fragrans.

Außerdem müßte man die Aktivität der Rhusölkomponenten in anderer Formulierung überprüfen, da Pentan für den praktischen Einsatz ungeeignet ist. Auch im Hinblick auf die erforderlichen Mengen und die phytotoxischen Nebenwirkungen erscheint das Rhus-Destillat für den praktischen Gebrauch weniger geeignet.

4.4.3. Elsholtzia-Arten

4.4.3.1. Systematische Stellung und Einführung

Systematische Stellung:

Abteilung:	Spermatophyta (Samenpflanzen)
Unterabt.:	Magnoliophytina (Bedecktsamer)
Klasse:	Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige)
Unterklasse:	Asteridae
Überordnung:	Lamianae
Ordnung:	Lamiales
Familie:	Lamiaceae (Lippenblütler)
Gattung:	Elsholtzia Willd.

Die etwa zwanzig Arten der Gattung Elsholtzia sind nach Hegi (1927) hauptsächlich in Asien beheimatet. Von ihren verschiedenen, pharmakologischen Anwendungsmöglichkeiten wurde berichtet (s. Ref. Kobold et al., 1987).
Die hier bearbeiteten ätherischen Öle der Arten E. cristata, E. strobilifera und E. pilosa sowie einer weiteren, noch nicht eindeutig bestimmten Elsholtzia-Art erhielten wir von Dr. A.K. Pant (Department of Chemistry, Kumaon University, Nainital, Indien). Sie stammen alle aus der Region Kumaon im indischen Himalaya (ca. 2200 m). Die Öle wurden durch Wasserdampfdestillation der frischen Pflanzenteile und Extraktion des Wassers mit Pentan gewonnen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert.

4.4.3.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips

4.4.3.2.1. Elsholtzia cristata Willd. (Kamminze)

Die Kamminze ist die einzige Elsholtzia-Spezies, die auch in Deutschland verwildert anzutreffen ist.
Hauptbestandteil des E. cristata-Öles, das aus blühendem Kraut gewonnen wurde, ist Dehydroelsholtziaketon (= 3-Methyl-2-(3-

methylbut-2-enoyl)-furan) mit einem Anteil von 88,7 %. Nur eine weitere Komponente erreicht einen Anteil von mehr als 1 %, nämlich Humulen mit 1,36 %. Einzelheiten zur Analyse des Öles siehe bei Kobold et al. (1987).

Im Schnelltest mit M. dirhodum trat bei einer Konzentration von 10 mg Öl/ml Pentan eine Befallsminderung von 91 % auf. Mittels Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel trennte man das Öl in drei Fraktionen, die in Konzentrationen von jeweils 3 mg/ml erneut zum Test kamen. Man erhielt folgende Verteilung der Wirksamkeit: Fraktion 1, 45 %
" 2, 62 %
" 3, 37 %.
An den Weizenhalmen waren dabei nur vereinzelt welke Flecke festzustellen. Die mit 62 % am stärksten wirksame Fraktion 2 bestand zu 98 % aus Dehydroelsholtziaketon.

Auch im Test mit dem Mexikanischen Bohnenkäfer zeigte das Kamminzenöl Wirkung. Bei Applikation von 20 g/kg (800 µg Öl in 5 µl TWEEN80-Lösung/Tier) war nach 48 h Versuchszeit eine Mortalität von 94 % zu beobachten. Die Fraktionen wurden in Konzentrationen von je 10 g/kg getestet. In keinem Fall starben die Testtiere, jedoch waren wiederum bei Fraktion 2 Verhaltensanomalien wie verstärktes Putzen, Rückenlage, schwerfällige Bewegungen und eingeschränktes Fraßverhalten zu beobachten. Nach 48 h erholten sich die Käfer, so daß nur das Fraßverhalten im Vergleich zur Kontrolle reduziert blieb.

4.4.3.2.2. Elsholtzia strobilifera Benth.

Die Hauptbestandteile des E. strobilifera-Öles, das aus frischen Blütenknospen gewonnen wurde, sind in Tabelle 21 mit ihren Prozentanteilen aufgeführt. Es wurden nur Komponenten mit mehr als 1 % Anteil berücksichtigt.

Tabelle 21: Hauptkomponenten des ätherischen Öles aus frischen Blüten von Elsholtzia strobilifera (nach Bisht et al., 1985)

Komponente	Gehalt (%)
Pinocarvon	51,9
ß-Pinen	9,7
Sabinen	5,6
Humulen	3,8
(E)-Ocimen	1,8
(Z)-Ocimen	1,3
ß-Cubeben	1,5
p-Cymol	1,4
Terpinen-4-ol	1,4

Im Schnelltest mit M. dirhodum war bei einer Konzentration von 10 mg Öl/ml Pentan eine Befallsminderung von 77 % zu verzeichnen. Der Hauptbestandteil Pinocarvon stand nicht zur Verfügung und ist käuflich nicht zu erwerben. Eine Synthese aus Pinocarveol ist geplant, um die Wirksamkeit anschließend im Test zu klären. ß-Pinen und Sabinen wurden entsprechend ihrem Anteil im Öl geprüft, zeigten aber kaum Wirkung. Für ß-Pinen betrug die Besatzminderung 19 %, für Sabinen 13 %.

4.4.3.2.3. Elsholtzia pilosa und noch nicht bestimmte Elsholtzia-Art

Die Aufklärung der Inhaltsstoffe des ätherischen Öles aus Blütenknospen von E. pilosa ist noch nicht abgeschlossen.
Die Wirksamkeit dieses Öles als Aphizid ist deutlich geringer als die des cristata- und strobilifera-Öles. Mit der gleichen Dosis von 10 mg/ml erreichte man eine Befallsminderung von 55 %. Ähnlich geringe Aktivität zeigten die Öle aus Blüten bzw. Blättern der bisher unbestimmten Elsholtzia-Art. Mit 10 mg/ml Pentan ergaben sich Befallsminderungen von 51 % (Blüten) bzw. 54 % (Blätter).

4.4.4. Anethum graveolens L. (Dill)

4.4.4.1. Systematische Stellung und Einführung

Systematische Stellung:

Abteilung:	Spermatophyta (Samenpflanzen)
Unterabt.:	Magnoliophytina (Bedecktsamer)
Klasse:	Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige)
Unterklasse:	Rosidae
Überordnung:	Aralianae
Ordnung:	Araliales
Familie:	Apiaceae (Doldenblütler)
Gattung:	Anethum
Art:	Anethum graveolens L. (Dill)

Der Dill ist im ostmediterranen Raum beheimatet und wird oft als Gewürzpflanze kultiviert (Oberdorfer, 1983). Nur noch selten werden Dillfrüchte als Heilmittel (Carminativum, Expectorans) genutzt (Teuscher, 1983).

Der hier verwendete Dill wurde im Aromagarten Erlangen aus Samen (Fa. Pfann, Nürnberg) gezogen. Die Direktaussaat in vorbereitete Beete erfolgte jeweils Anfang April. Zweck des beetmäßigen Anbaus war die Gewinnung von Ethanol-Extrakten aus Dillfrüchten. Das ätherische Öl aus Dill ist in seiner Zusammensetzung weitgehend bekannt (s. Henry und Ref. dort, 1982). Auch über insektizide Eigenschaften von Dillkomponenten wurde berichtet (Lichtenstein et al., 1974). Die Ergebnisse mit Dillöl sollen im Folgenden besonders im Hinblick auf den Gehalt an (+)-Carvon erläutert werden.

4.4.4.2. Die Aphizid-Wirkung der Hauptbestandteile des Dillöls

Die Wirkung des Öles aus Dillfrüchten lag bei Applikation von 20 mg/ml Pentan bei 83 %. Die Phytotoxizität betrug durchschnittlich 50 %. Die Hauptbestandteile des Dillöls, ihre prozentualen Anteile, ihre Ergebnisse im Schnelltest und die dabei auftretende Phytotoxizität sind in Tabelle 22 aufgeführt. Die eingesetzten Konzentrationen entsprechen den Anteilen in 20 mg Öl, ausgenommen ist der Dillether, der in der doppelten Konzentration getestet wurde.

Tabelle 22: Prozentanteile und Testergebnisse der Hauptbestandteile des ätherischen Öles aus Dillfrüchten

Testsubstanz, Konz. (mg/ml Pentan)		Gehalt im Öl (%)	Befallsmind. (%)	Phytotoxizität
Limonen,	8,9	44,7	54	0 bis 25 % welk
(+)-Carvon	6,7	33,4	90	durchschn. 60 %
α-Phellandren	1,8	9,0	6	keine
Dillether	2,0	4,4	28	einige Flecke

Aus Tab. 22 ist ersichtlich, daß die Wirksamkeit des Dillöls schon durch den (+)-Carvon-Gehalt erklärbar ist. Auch die hohe Phytotoxizität trat bei den Carvon-Tests erneut auf.

Vergleichende Tests mit (-)-Carvon in der selben Konzentration und in dem selben Lösungsmittel ergaben eine Befallsminderung von 87 %, wobei durchschnittlich 55 % der Halmflächen geschädigt waren.

Lichtenstein et al. (1974) berichteten ebenfalls von insektiziden Wirkungen des (+)-Carvon aus Dill (Kraut mit reifen Samen). Die Testobjekte waren Fruchtfliegen (Drosophila melanogaster) und Moskitos (Aedes aegypti). Außerdem stellten sie ein synergistisches Zusammenwirken von (+)-Carvon und den Insektiziden Carbofuran, Carbaryl und Parathion fest (wie unter 4.4.1.4.3.

beschrieben). Sie weisen auf die Bedeutung solcher Befunde hin in Anbetracht der Möglichkeit, daß Bestandteile aus Nahrungspflanzen wie Dill mit Rückständen von Pestiziden im menschlichen Körper interagieren könnten.

Panasiuk (1984) berichtete von Carvon aus dem Rainfarn (Tanacetum vulgare) als einem Repellent für den Kartoffelkäfer (Leptinotarsa decemlineata). Dagegen stellten Chapman et al. (1981) für die Blattlaus Cavariella aegopodii eine starke Attraktivwirkung von (+)- und (-)-Carvon fest.

Auch von Limonen sind gegensätzliche Wirkungen bekannt. Jacobson (1982) berichtete von insektiziden Eigenschaften des Limonen bei Callosobruchus phaseoli, von Attraktivwirkungen jedoch auf männliche Mittelmeerfruchtfliegen.

4.5. Untersuchte Ethanolextrakte

Die Extrakte erwiesen sich als wesentlich schwieriger zu bearbeiten als die ätherischen Öle. Die Ursachen dafür sind:

- die Belastung mit mehr oder weniger großen Mengen von Farbstoffen, besonders Chlorophyllen, welche die präparative Säulen- und Dünnschichtchromatographie beeinträchtigen;
- die schwierigere Analytik, da man a) durch Extraktion mit Ethanol im Vergleich zu ätherischen Ölen sehr viel mehr Substanzen aus ganz unterschiedlichen Substanzgruppen erhält; und b) aufgrund des hohen Molekulargewichts bzw. der geringen Flüchtigkeit vieler Extraktkomponenten nicht mit GC-MS arbeiten kann;
- Mangel an Pflanzenmaterial bzw. unzureichende Kapazität der Extraktionsapparaturen; man erreichte zum Teil nach einigen Trennschritten aktive Fraktionen, die aber einen geringen Anteil am Gesamtextrakt hatten; für weitere Trennungen wären große Mengen von Rohextrakt erforderlich gewesen, die mit unseren Möglichkeiten nicht hergestellt und aufgearbeitet werden konnten;
- Testschwierigkeiten; da gegen Ende der Arbeiten eine Sensibilisierung der Versuchstiere gegenüber Ethanol und Methanol auftrat, waren die Testwerte von Proben, die in diesen Lösungsmitteln appliziert werden mußten, nicht mehr zuverlässig; die weitere Bearbeitung der Ethanolextrakte mußte deshalb vorerst zurückgestellt werden.

Obwohl über die Insektizidwirkung keines der bearbeiteten Ethanolextrakte konkrete Erkenntnisse gewonnen werden konnten, seien die bisherigen Ergebnisse im Folgenden kurz dargestellt.

4.5.1. Anethum graveolens L. (Dill)

4.5.1.1. Systematische Stellung und Einführung

Zur Systematik und allgemeinen Information siehe 4.4.4.1. Bei der Bearbeitung des Dillextraktes stellten sich viele der oben angeführten Schwierigkeiten ein. Es gab jedoch keine Testprobleme, da die in Frage kommenden Fraktionen etherlöslich waren. Durch gaschromatographische Analyse wurde sichergestellt, daß es sich bei den im Extrakt aktiven Substanzen nicht um (+)-Carvon, Myristizin oder Apiol handelt, die im ätherischen Öl wirksam sind.
Nur ein Teil der Dillernte konnte frisch extrahiert werden. Der Rest wurde zunächst bei -15°C gelagert und schnellstmöglich extrahiert. Es stellte sich heraus, daß die Tiefgefrierung die Zusammensetzung des Extrakts veränderte, so daß die weiteren Trennschritte gegenüber dem Extrakt aus frischem Material variiert werden mußten. Die Fraktionierungen und analytischen Arbeiten führte Frau Elisenda Arboix am Institut für Organische Chemie durch.

4.5.1.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips

Eine Übersicht zu den Vorversuchen gibt Tabelle 23.

Tabelle 23: Insektizidwirkung verschiedener Dillextrakte auf M. dirhodum und ihre Phytotoxizität

Testlösung (rohe Extrakte)	Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Blütenknospen, Pentan	15	wenige Flecke
Ethanol	99	keine
entfaltete Blüten,		
Pentan	30	0 bis 5 % welk
Ethanol	97	keine
grüne Früchte, Pentan	56	wenige Flecke
Ether	38	keine
Ethanol	92	keine

Der Extrakt aus grünen Früchten wurde zunächst mit Pentan, dann mit Ether extrahiert, wonach die größte Aktivität, 84 % Befallsminderung, beim Pentanextrakt festgestellt wurde. Dieser wurde mittels Flüssigsäulen- und Dünnschichtchromatographie weiter fraktioniert, wobei sich die Aktivität immer auf mehrere Fraktionen verteilte und in einen Bereich von 50 bis 75 % Befallsminderung absank. Anreicherungen mit stärkerer Aphizid-Wirkung waren selten feststellbar und ließen sich bei Bearbeitung späterer Extrakte nicht reproduzieren.

4.5.2. Betula pendula Roth. (Weißbirke)

4.5.2.1. Systematische Stellung und Einführung

Systematische Stellung:

Abteilung:	Spermatophyta (Samenpflanzen)
Unterabt.:	Magnoliophytina (Bedecktsamer)
Klasse:	Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige)
Unterklasse:	Hamamelididae
Ordnung:	Fagales
Familie:	Betulaceae (Birken)
Art:	Betula pendula Roth. (Weißbirke)

Die Weißbirke, die auch als B. verrucosa, B. alba, B. lobulata, B. rhombifolia oder B. maior bekannt ist (Hegi, 1957), findet man in ganz Europa verbreitet. Sie unterscheidet sich von der ebenfalls einheimischen Moorbirke (Betula pubescens) durch die fast kahlen, hängenden jungen Zweige (B. pub. mit behaarten, nicht hängenden jungen Zweigen), den 3-eckig-rhombischen Blattgrund (B. pub. mit rundlich-eiförmigem Blattgrund) und die hellere Rinde (B. pub. mit gelblich-weißer oder grau-weißer Rinde).

Als Inhaltsstoffe von Birkenblättern sind verschiedene Flavonoidglycoside mit Acacetin, Isorhamnetin, Quercetin und Kaempferol als Aglyca bekannt (Pawlowska, 1980).

Die hier verwendeten Birkenblätter wurden in den Wäldern um Erlangen gesammelt und entweder sofort extrahiert oder im Schatten getrocknet undanschließend extrahiert. Die Aufarbeitung und Fraktionierung der Birkenextrakte wurde von Herrn Uwe Kobold vorgenommen, der drei verschiedene Trennungsgänge für Extrakte aus frischen und getrockneten Blättern und aus in Apotheken erhältlichen pulverisierten, trockenen Blättern (Tee) ausarbeitete.

4.5.2.2. Versuche zur Aufklärung des Wirkprinzips

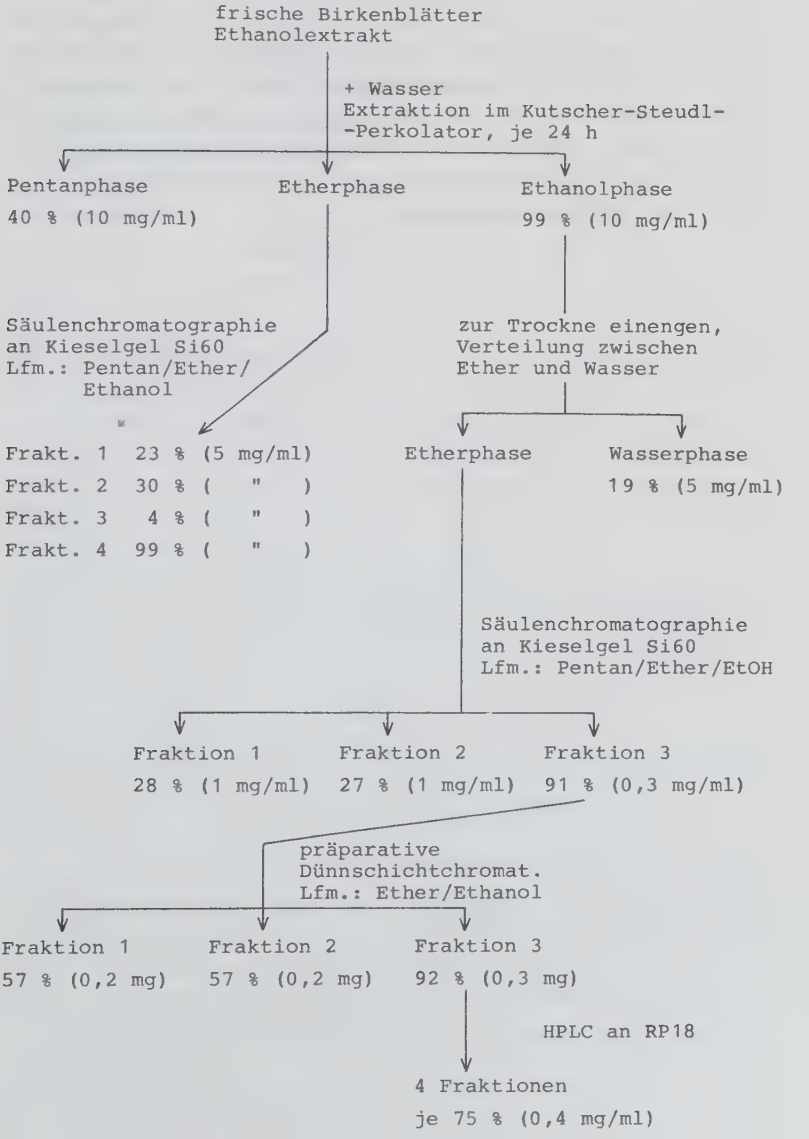
Bei den Trennungsgängen mit Extrakten aus getrockneten Blättern verteilte sich die Wirksamkeit schon zu Beginn auf mehrere Fraktionen, die alle relativ hohe Besatzminderungen erreichten (77 bis 97 %). Die beste Auftrennung und Anreicherung der aktiven Substanz(en) erhielt man mit dem Extrakt aus frischen Blättern.

Tabelle 24: Übersicht zu den Vorversuchen. Insektizidwirkung verschiedener Birkenextrakte auf M. dirhodum und ihre Phytotoxizität.

Testlösung, Konz. mg/ml	Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
frische Blätter, Ether, roh	2	keine
Ethanol, roh	95	"
" 3,0	90	"
getrock. Blätter, Pentan, 10	53	"
Ether, 10	70	"
Ethanol, 20	97	"
pulv. getrock. Blätter,		"
Ether, 6,5	97	"
Ethanol, 6,5	99	"
frische, grüne Früchte,		
Ethanol, roh	100	"
" 3,0	85	"

Die aktivste Fraktion aus dem Extrakt frischer Blätter bewirkte in einer Konzentration von nur 300 µg/ml Ethanol eine Befallsminderung von 91 %. Dabei handelte es sich noch immer um ein Gemisch aus mehreren Substanzen. Der Trennungsgang für frische Blätter ist in Abbildung 20 mit den dazugehörigen Testergebnissen dargestellt. Die Ergebnisse der letzten zwei Trennungen sind dabei nicht zuverlässig, weil die Versuchstiere zu diesem Zeitpunkt bereits zu sensibel auf polare Lösungsmittel reagierten.

Abbildung 20: Trennungsgang für den Extrakt aus frischen Birkenblättern mit Angabe der Befallsminderung im Test mit M. dirhodum in % (nach Kobold, 1987)



Versuche, die wirksame Substanz in weniger polare Lösungsmittel oder in wäßrige Lösungen unter Zusatz verschiedener Emulgatoren zu überführen, scheiterten. In Diethylether ließ sich die Substanz zwar bei leichtem Erwärmen lösen, fiel aber bei Abkühlung in Form weißlicher Plättchen wieder aus. Bei Applikation in Ether fiel die Wirksamkeit von vorher in Ethanol gelösten Fraktionen von etwa 90 % auf etwa 40 % ab. Bei Emulsionen war der Aktivitätsverlust noch größer. Vorläufige Ergebnisse mit 70 %-igem und 80 %-igem Ethanol zeigen eine bessere Verträglichkeit für die Blattläuse bei weitgehendem Erhalt der toxischen Wirkung des Birkenextrakts. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung sind erforderlich.

4.5.3. Physalis edulis (Andenbeere)

4.5.3.1. Systematische Stellung und Einführung

Systematische Stellung:

Abteilung:	Spermatophyta (Samenpflanze)
Unterabt.:	Magnoliophytina (Bedecktsamer)
Klasse:	Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige)
Unterklasse:	Asteridae
Überordnung:	Lamianae
Ordnung:	Scrophulariales
Familie:	Solanaceae (Nachtschattengewächse)
Gattung:	Physalis
Art:	Physalis edulis (Andenbeere)

Bei der Benennung Ph. "edulis" handelt es sich vermutlich um ein Synonym für Physalis peruviana, die in Südamerika beheimatet ist und dort wegen ihrer eßbaren Früchte kultiviert wird. Die hier verwendeten Pflanzen wurden aus Samen (Fa. Pfann, Nürnberg) gezogen, pikiert, einmal umgetopft und Mitte Mai im Aromagarten Erlangen ausgesetzt. Der Samen wird unter der Bezeichnung Ph. edulis, sel. agri gehandelt.
Die Blätter der Andenbeere wurden entweder frisch extrahiert oder vor derExtraktion im Schatten getrocknet. Die Fraktionierungen sowie Extraktionen in größerem Maßstab führte Frau Elisenda Arboix durch.

In der Familie der Nachtschattengewächse gibt es zahlreiche Vertreter, die toxische Alkaloide enthalten (Beispiele: Atropa belladonna, Atropin; Datura stramonium, Hyoscyamin).

In Ph. peruviana fand man Tigloidin (= 3ß-Tigloyloxytropan), das in der ganzen Pflanze vorkommt (Beresford und Woolley, 1974) und (+)-Physoperuvin sowie (+)-N,N-Dimethylphysoperuvin in den Wurzeln der Andenbeere (Sahai und Ray, 1980). In den Blättern wurden zwölf verschiedene Steroide (Withanolide) nachgewiesen (Sahai et al., 1982). Für einige dieser Withanolide fand man

Antifeedant-Eigenschaften bei Larven von Spodoptera littoralis (Ascher et al., 1980). Von einer in den USA vorkommenden Art, Physalis mollis, berichtete Harris (1948) insektizide Effekte gegenüber Stubenfliegen. Er isolierte ein Glycosid (Glycon: Glucose) als Träger der Insektizidwirkung.

4.5.3.2. Versuche zur Aufklärung des wirksamen Prinzips

Tabelle 25: Übersicht zu den Vorversuchen. Insektizidwirkung verschiedener Extrakte von Blättern der Andenbeere auf M. dirhodum und ihre Phytotoxizität.

Testlösung (rohe Extrakte)	Befallsminderung (%)	Phytotoxizität
Blätter, Pentan	+13	kaum
Ether	11	keine
Ethanol	98	"
Wasser	2	"

Der Ethanolextrakt wurde zunächst mit Pentan, dann mit Ether stufenweise extrahiert. Im Test erreichte der Pentanextrakt 89 % Befallsminderung, der Etherextrakt 82 % und der Ethanolrückstand 97 %. Darauf wurde der Ethanolteil durch eine Flüssigsäulenchromatographie in sechs Fraktionen geteilt, wobei die polarste Fraktion 95 % Befallsminderung hervorrief bei einer Konzentration von 5 mg/ml. Diese Fraktion wurde sowohl mittels Dünnschichtchromatographie als auch durch HPLC nochmals aufgetrennt. Mit keiner der beiden Methoden konnte jedoch eine weitere Anreicherung der insektiziden Wirkstoffe erreicht werden. Wie schon bei Bearbeitung des Dill- und Birkenextraktes beobachtet, verteilte sich die Aktivität auf mehrere mäßig wirksame Fraktionen.

Eine Weiterbearbeitung des Extraktes mußte zurückgestellt werden, da auch hier Verfälschungen der Testergebnisse durch die zunehmende Sensibilität der Getreideblattlaus gegenüber Ethanol auftraten.

4.6. Diskussion der Lösungsmitteleffekte

Wie am Beispiel des Birkenextraktes deutlich wurde, kann das Lösungsmittel, worin ein Insektizid formuliert ist, entscheidenden Einfluß auf die Wirksamkeit ausüben.
Daher werden Mittlermedien mit wirkungsförderndem Effekt als Pseudosynergisten bezeichnet. In Ölemulsionen oder organischen Solventien sind chemische Insektizide meist toxischer als in wäßriger Lösung (z.B. DDT: in Benzol 4 bis 6 mal toxischer als in Wasser). Die Grenzen zwischen Gift und Lösungsmittel sind fließend. So wirkt im Falle der Buschhornblattwespe (Diprion pini) Mineralöl toxischer als DDT (Schmidt, 1986).

In der vorliegenden Arbeit konnten Lösungsmitteleffekte bei Carvon-Behandlungen festgestellt werden. Pentanlösungen sowohl von (+)-Carvon als auch von (-)-Carvon erzielten um etwa 35 % höhere Befallsminderungen als gleich-konzentrierte, wäßrige TWEEN80-Lösungen.

Bei einem Vergleich der Phytotoxizität von in Pentan gelöstem Balsamkraut und Dillöl fällt auf, daß das Balsamkrautöl nur wenig phytotoxisch war, während das Dillöl in Konzentrationen mit vergleichbarem Carvon-Gehalt regelmäßig Schäden von ca. 50 % an den Weizenhalmen verursachte. Als Reinsubstanzen getestet ergaben sich aber mit (+)- und (-)-Carvon gleich hohe phytotoxische Effekte. Die Wirkung von Komponenten in ätherischen Ölen wird also nicht nur vom Lösungsmittel, sondern auch von den übrigen Ölkomponenten beeinflußt.

Das Ölkomponenten untereinander als Lösungsvermittler fungieren können, wird am Beispiel des Rhus-Destillates deutlich. Die langkettigen Alkohole Eicosanol und Docosanol waren als Reinsubstanzen in Pentan unlöslich. Als Bestandteile des Essigbaumöles (Anteil zusammen 5,3 %) ließen sie sich jedoch problemlos in Pentan lösen.

4.7. Abschließende Diskussion und Ausblick

Die chemischen Interaktionen zwischen Pflanzen und Insekten sind vielfältig und bei weitem noch nicht erschöpfend untersucht. Es gibt sowohl Pflanzen, die breit wirksame, hochtoxische Insektizide produzieren, als auch solche, die artspezifisch wirksame Deterrentien und Antifeedants zu ihrer Verteidigung hervorbringen. Eine selektiv wirkende Substanz kann gleichzeitig manche Herbivoren abschrecken, schädigende Effekte wie erhöhte Sterblichkeit, Entwicklungsstörungen oder verminderte Fruchtbarkeit hervorrufen, auf andere Insekten dagegen keine oder sogar attraktive Wirkung haben (s. Kap. 2.4.3. und 4.4.4.2. sowie Rhoades und Cates, 1976 und Ref. dort). Viele Herbivoren erkennen ihre Futterpflanzen an ganz bestimmten Inhaltsstoffen, welche meist Produkte des sogenannten Sekundärstoffwechsels der Pflanzen sind. Manche Insekten haben sich sogar so weit spezialisiert, daß sie hochgiftige Substanzen aus ihren Wirtspflanzen aufnehmen und für die eigene Verteidigung nutzen. Die Freisetzung eines bestimmten Stoffes kann also einerseits für die produzierende Pflanze vorteilhaft sein, dann wird der Stoff als Allomon bezeichnet, andererseits nicht dem Produzenten sondern dem Empfänger Nutzen bringen und wird dann Kairomon genannt (nach Nordlund, 1981). Dieser Sachverhalt läßt sich am schlüssigsten als Ergebnis einer Co-Evolution von Pflanzen und Herbivoren erklären, wobei im Falle der Allomonfunktion die größere "Fitness" auf Seiten der Pflanze erreicht, im Falle der Kairomonfunktion auf Seiten des Insekts entwickelt wurde.

Die meisten Arbeiten auf dem Gebiet der natürlichen Pflanzenschutzmittel beschäftigen sich mit der Aufklärung der Wirkung von Einzelsubstanzen, ohne die möglichen synergistischen oder antagonistischen Einflüsse der zahlreichen anderen in der Pflanze vorkommenden Inhaltsstoffe zu berücksichtigen, was schon Swain (1977) kritisierte. Auch über diurnale und jahreszeitliche Schwankungen in der Konzentration sekundärer Produkte in Pflanzen ist zu wenig bekannt.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß in den "Rohprodukten", die manche Pflanzen liefern, Gemische von Wirkstoffen vorhanden sind, die sich gegenseitig synergistisch unterstützen (s. Kap. 4.4.1.4. Balsamkraut und 4.4.2.3. Essigbaum). Im Falle des ätherischen Öles aus den Blättern des Balsamkrautes konnte ein synergistisches Zusammenwirken von (-)-Carvon , dem Hauptbestandteil des Balsamita-Öles, und natürlichen Pyrethroiden aufgeklärt und eine jahreszeitliche Abhängigkeit des Pyrethringehaltes nachgewiesen werden. Interessanterweise ist auch in der Insektenpulverpflanze (Chr. cinerariaefolium), aus der das Pyrethrum gewonnen wird, der Synergist Sesamin enthalten (Doskotch und El Feraly, 1969).

Auch im Destillat aus Essigbaumblättern war ein Zusammenwirken des Hauptbestandteils Phytol mit anderen Komponenten (Alkoholen und Fettsäuren) feststellbar. In einer Fraktion des Destillates konnte Hexahydrofarnesylaceton, ein mögliches Oxidationsprodukt von Phytol, das isoliert noch wirksamer ist als Phytol, als Wirksubstanz identifiziert werden. Strukturelle Ähnlichkeiten von Phytol und HHFA mit Farnesol einerseits, welches als Juvenilhormonanalogon bekannt ist (Schmialek, 1961) und 2-Methylketonen andererseits, für die Insektizidaktivität nachgewiesen wurde (Dimock et al., 1982), könnten Anlaß zu weiteren Untersuchungen geben. Auch Ergebnisse anderer Autoren (s. S. 111) weisen in diese Richtung).

Bei mehreren untersuchten Ethanolextrakten stellte sich bei fortschreitender Fraktionierung ein Wirkungsverlust ein (s. Kap. 4.5.1.2. Dill und 4.5.3.2. Andenbeere).

Es hat den Anschein, daß in vielen - wenn nicht allen - pflanzlichen Mitteln synergistische Mechanismen an der Wirkung beteiligt sind. Man sollte sich also nicht ausschließlich auf die Suche nach hochwirksamen Einzelsubstanzen beschränken, sondern die Verwendung von Rohextrakten oder leicht gereinigten Fraktionen in Betracht ziehen, sofern diese ohne großen Aufwand hergestellt werden können.

Ferner hing in manchen Fällen die Wirksamkeit eines Extraktes oder einer Substanz entscheidend von der Wahl des Lösungsmittels ab (s. Kap. 4.5.2.2., Birke und 4.6. Lösungsmitteleffekte). Da besonders bei Verwendung von Ethanol als Lösungsmittel von vielen Pflanzen aktive Extrakte erhalten wurden (s. Tab. 2, S. 49 bis 55 und Kapt. 4.5.), wäre zu überlegen, ob Ethanol-Formulierungen für solche Präparate nicht auch in der Praxis anwendbar sind. Auf dem Gebiet der Lösungsvermittler gibt es zudem pflanzliche Produkte, die durchaus mit dem heute meistverwendeten Mineralöl konkurrieren könnten. Holman (1940) nennt z.B. Erdnuß-, Leinsamen-, Oliven- und Sojaöl, die genauso wie Mineralöl als Spray-Adjuvans genutzt werden könnten und auf manche Insekten sogar toxischer wirken. Er berichtet auch über synergistische Effekte der Pflanzenöle mit bestimmten Insektiziden.

Literaturstudium und eigene Experimente zeigen, daß die Natur genügend Substanzen hervorbringt, die als Schädlingsbekämpfungsmittel eingesetzt werden könnten. Theoretisch müßte man "nur" jeweils geeignete Kombinationen von Schädling, natürlichem Kontrollagens und Lösungsmittel finden. Man könnte sich als "ideales Insektizid" ein für das jeweils zu bekämpfende Insekt und die Schwere des Befalls "maßgeschneidertes" Präparat vorstellen, welches

a) die natürlichen Feinde des Schädlings schont,
b) aus leicht abbaubaren Naturstoffen besteht,
c) für die Pflanze verträglich formuliert ist, am besten mit einem Lösungsmittel, das den (die) Wirkstoff(e) synergistisch unterstützt,
d) für den Menschen unschädlich ist.

Die Voraussetzungen für ein solches Vorgehen sind jedoch derzeit nicht gegeben. Denn

1) müßte die Grundlagenforschung intensiviert und folglich finanziell stärker gefördert werden, so daß für jeden wirtschaftlich relevanten Schädling ein anpassungsfähiges Bekämpfungsprogramm entwickelt werden könnte.
2) müßte auf Seiten der Hersteller von Bekämpfungsmitteln ein Interesse vorhanden sein, natürliche

und selektive Präparate auf den Markt zu bringen.

3) wäre für ein solches Vorgehen ein "idealer Anwender" erforderlich, der die nötigen Maßnahmen richtig einschätzen können und ein umfangreiches Wissen auf den Gebieten Biologie der Insekten, chemische Interaktionen zwischen Insekten und Pflanzen, und Verwendungs- und Formulierungsmöglichkeiten der verfügbaren Kontrollagentien besitzen müßte.

Furtick (1976) betont in diesem Zusammenhang die Wichtigkeit einer internationalen Zusammenarbeit in den Bereichen Forschung, Patentrechte und Registrierungsstandards. Seine Vorschläge reichen von der Einrichtung eines internationalen Forschungsnetzwerkes mit Informationsdienst, um die Kosten für Biotests, Toxikologie und Entwicklung von Gebrauchsmaßregeln zu senken, bis hin zu international koordinierten Maßnahmen zur Ausbildung von qualifizierten Technikern und Anwendern.

Es bleibt zu hoffen, daß die Forschungsergebnisse und Vorschläge der Wissenschaftler der Öffentlichkeit in dem Maße vermittelt werden können, daß sich beim Einzelnen ein gesteigertes Umweltbewußtsein entwickelt. Denn letztlich ist ein Fortschritt in Richtung natürlicher Schädlingsbekämpfung auch von den einzelnen Verbrauchern abhängig, seien es Hausgartenbesitzer, Gärtnereien, Baumschulen oder Landwirte, die entsprechende Verfahren und Präparate bevorzugen und verlangen müßten.

C Zusammenfassung

Die intensive Anwendung der chemischen Insektizide hat vielfach zur Ausbildung von Resistenzen bei Schadinsekten geführt. Die Ursache dafür ist vor allem in der unüberlegten Handhabung (Daueranwendung, falscher Zeitpunkt, zu großflächige Ausbringung, Überdosierung) und schweren Abbaubarkeit synthetischer Präparate zu suchen. Zahlreiche Untersuchungen belegen außerdem Nebenwirkungen der synthetischen Insektizide, die die gesamte belebte Natur betreffen.

Die Taktiken des integrierten Pflanzenschutzes stellen eine Alternative zu der rein chemischen Methode der Schädlingsbekämpfung dar. Dabei ist jedoch eine gründliche Kenntnis der Biologie des Schädlings und des zu seiner Eindämmung vorgesehenen Nutzorganismus Voraussetzung. In Fällen, wo der Einsatz von Insektiziden unvermeidlich ist, sind selektive und leicht abbaubare, natürliche Mittel zu bevorzugen, aber auch manche chemischen Insektizide würden bei besonnenem Gebrauch weniger Schaden anrichten.

In der vorliegenden Untersuchung wurden ätherische Öle und Extrakte aus 45 verschiedenen, überwiegend einheimischen Pflanzenarten auf insektizide Aktivität hin getestet. Die Versuchstiere waren zwei einheimische Blattlausarten (Bleiche Getreideblattlaus, Grüne Erbsenblattlaus) und der Mexikanische Bohnenkäfer. Zur Erfassung der Wirksamkeit der Öle und Extrakte diente ein Schnelltest, in dem die beiden Blattlausarten eingesetzt wurden. Die Zuverlässigkeit des Schnelltestverfahrens wurde statistisch überprüft.

Die besten Ergebnisse erzielte man im allgemeinen mit ätherischen Ölen oder Ethanolextrakten, von denen die aktivsten ausgewählt, fraktioniert und ausführlicher untersucht wurden. In diese Arbeit aufgenommen wurden die Untersuchungen der ätherischen Öle aus Chrysanthemum balsamita, Rhus typhina, verschiedener Elsholtzia-Arten und Anethum graveolens und der Ethanolextrakte von Anethum graveolens, Betula pendula und Physalis edulis. In

vielen Fällen stellte sich bereits nach wenigen Trennschritten ein Wirkungsverlust ein, was zu der Vermutung führte, daß die Insektizidwirkung durch das Zusammenwirken mehrerer Komponenten verursacht wurde. Die Identifizierung von Einzelkomponenten war bei ätherischen Ölen durch Anwendung von GC-MS durch Mitarbeiter am Institut möglich und weniger problematisch als bei Ethanolextrakten. Eine zusätzliche Erschwernis bei der Bearbeitung von Ethanolextrakten war die Entwicklung einer Überempfindlichkeit gegenüber polaren Lösungsmitteln (Ethanol, Methanol) bei dem hauptsächlich verwendeten Testinsekt, der Bleichen Getreideblattlaus.

Im ätherischen Öl von Chrysanthemum balsamita (Balsamkraut) identifizierten wir Pyrethrin I als Ursache der Insektizidwirkung. Um die Aufzeichnung von Dosis-Effekt-Kennlinien zu ermöglichen, wurde ein statistisch überprüfbares Dauertestverfahren entwikkelt, bei dem die Getreideblattlaus verwendet wurde. So konnten jahreszeitliche Unterschiede in der Wirksamkeit der Öle gefunden und ein Vergleich mit einem handelsüblichen Pyrethrum-Präparat angestellt werden. Die maximale Aphizidwirkung wurde bei den Ölen gefunden, die aus Ernten im Mai/Juni hergestellt waren. Ein gewerblicher Anbau des Balsamkrautes zum Zwecke der Pyrethrum-Gewinnung muß jedoch wegen des geringen Wirkstoffgehaltes als unrentabel bezeichnet werden.

Ferner konnte ein Synergismus zwischen natürlichen Pyrethroiden und dem Hauptbestandteil des Balsamkrautöles, (-)-Carvon, festgestellt werden. Dabei scheint das Mischungsverhältnis Pyrethroide : Carvon keinen Einfluß auf das Ausmaß des Synergismus auszuüben. Die Auswertung der Dosis-Effekt-Experimente im Hinblick auf mögliche Synergismen erfolgte auf zwei verschiedene Arten: mittels einer graphischen und einer einfachen, rechnerischen Methode.

Eine Insektizidwirkung, die auf dem synergistischen Zusammenwirken mehrerer Substanzen beruht, konnte für das Destillat aus Blättern von Rhus typhina (Essigbaum) aufgrund seiner "einfachen"

Komposition nachgewiesen werden. Die einzelnen Bestandteile des Öles konnten 1) identifiziert werden und waren 2) größtenteils als Reinsubstanzen erhältlich oder ohne Probleme synthetisierbar. Es wurden zwei aktive Fraktionen gefunden, wobei die erste überwiegend aus Aldehyden sowie Hexahydrofarnesylaceton bestand, die zweite einige Terpenalkohole, langkettige Alkanole und Fettsäuren enthielt. Die Wirksamkeit der Aldehydfraktion war auf ihren Gehalt an Hexahydrofarnesylaceton zurückzuführen, das hier im Vergleich zum Rohöl stark angereichert war. In der zweiten Fraktion war ein synergistisches Zusammenwirken von Phytol, dem Hauptbestandteil der Fraktion wie auch des Rohöles, mit den übrigen Komponenten feststellbar. Phytol ist der für die Insektizidaktivität des Gesamtöles wichtigste Bestandteil.

Im ätherischen Öl des Dill war (+)-Carvon (in Pentanlösung) für die Aphizidwirkung verantwortlich. Mit Carvon (sowohl (+)- als auch (-)-Carvon) konnte gezeigt werden, daß die insektizide und phytotoxische Effektivität von der Wahl des Lösungsmittels abhängt. Die Untersuchungen des Ethanolextraktes aus Dillfrüchten brachten keine Aufschlüsse über das Wirkprinzip. Anreicherungen der aktiven Substanzen waren selten feststellbar und ließen sich nicht reproduzieren.

Die Untersuchungen mit ätherischen Ölen verschiedener Elsholtzia-Arten und mit Ethanolextrakten aus den Blättern von Betula pendula (Weißbirke) und Physalis edulis (Andenbeere) sind noch nicht abgeschlossen. Beim Öl von Elsholtzia cristata fiel die gute Wirksamkeit gegenüber dem Mexikanischen Bohnenkäfer auf. Bei den Versuchen mit Birkenextrakt war die Abhängigkeit der Wirkung vom Lösungsmittel, in dem appliziert wurde, besonders augenfällig.

Abschließend kann man sagen, daß der Untersuchung von synergistischen Effekten im Rahmen der Forschung nach pflanzlichen Insektiziden mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden sollte. Dabei müßten sowohl Synergismen der Pflanzeninhaltsstoffe untereinander als auch Wechselwirkungen zwischen pflanzlichen Wirkstoffen und Lösungsmitteln berücksichtigt werden.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1) ABBOTT W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18, 265-267 (1925).

2) ASCHER K.R.S., NEMNY N.E., ELIYAHU M., KIRSON I., ABRAHAM A., GLOTTER E., Insect antifeedant properties of Withanolides and related steroids from Solanaceae. Experiencia 36(II), 998-999 (1980).

3) ASQUITH D. Methods of delaying selection of acaricide-restistant strains of the European Red Mite. J. Econ. Entomol. 54, 439 (1961).

4) ATKINS E.L., GREYWOOD E.A., MACDONALD R.L., Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees. Univ. of Calif. Div. Agr. Sci., leaflet 2287 (1973).

5) AULERICH R.J., RINGER R.K., SEAGRAN H.L., YOUATT W.G., Effects of feeding coho salmon and other Great Lake fish on mink reproduction. Canad. J. Zoology 49, 611-616 (1971).

6) BAER H. The poisonous Anacardiaceae, in: Toxic plants, Kinghorn A.D. edit., New York: Columbia Univ. Press (1979).

7) BALCOOMB R., STEVENS R., BOWEN C., Toxicity of 16 granular insecticides to wild-caught songbirds. Bulletin Envir. Contamin. Toxicol. 33, 302-307 (1984).

8) BARNES J.M. Toxic hazards to man, in: The future for insecticides: needs and prospects, Metcalf R.L., McKelvey J.J. edit., Vol. 6, New York: Wiley (1976).

9) BENTON A.H. Effects on wildlife of DDT used for control of Dutch elm disease. J. Wildlife Managem. 15, 20-27 (1951).

10) BERESFORD P.J., WOOLLEY J.G., Biosynthesis of tigloidine in Physalis peruviana. Phytochemistry 13 (10), 2143-2144 (1974).

11) BEROZA M. Insect sex attractants. American Scientist 59, 320-325 (1971).

12) BESTMANN H.J., VOSTROWSKY O., Insektenpheromone. Naturwissenschaften 69, 457-471 (1982).

13) BINDER D. New York Times, 26. Juni 1969.

14) BIOLOGISCHE BUNDESANSTALT FÜR LAND- UND FORTSWIRTSCHAFT, edit., Pflanzenschutzmittelverzeichnis 1984, Teil 2, 32. Aufl., Braunschweig: AcoDruck (1984).

15) BISHT J.C., PANT A.K., MATHELA C.S., KOBOLD U., VOSTROWSKY O., Constituents of essential oil of Elsholtzia strobilifera. Planta Medica No. 5, 412-414 (1985).

16) BLOSZYK E., DROZDZ B., Sesquiterpene lactones part XXII. Sesquiterpene lactones in species of the genus Chrysanthemum. Acta Soc. Bot. Poloniae 47, No. 1-2, 3-13 (1978).

17) BLUS L.J. Further interpretation on the relation of organochlorine residues in Brown Pelican eggs to reproductive success. Environm. Polution (Ser. A) 28, 15-33 (1982).

18) BÖRNER C. Europae centralis Aphides. Die Blattläuse Mitteleuropas. Mitteilg. Thür. Bot. Ges., Beiheft 3, Weimar: (1952).

19) BOSTANIAN N.J., DONDALE C.D., BINNS M.R., PITRE D., Effects of pesticide use on spiders (Araneae) in Quebeck apple orchards. The Canad. Entomologist 116, 663-675 (1984).

20) BOWERS W.S., OHTA T., CLEERE J.S., MARSELLA P.A., Discovery of insect anti-juvenile hormones in plants. Science 193, 542-547 (1976).

21) BOWERS W.S., NISHIDA R., Juvocimenes: potent juvenile hormone mimics from Sweet Basil. Science 209, 29, 1030-1032 (1980).

22) BRATTSTEN L.B., WILKINGSON O.F., ELSNER T., Herbivore-plant interactions: mixed-function oxidases and secondary plant substances. Science 196 (1349-1352 (1977).

23) BRATTSTEN L.B., HOLYOKE C.W. jr., LEEPER J.R., RAFFA K.F., Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. Science 231, 1255-1260 (1986).

24) BROWN A.W.A. Ecology of pesticides. New York: Wiley (1978).

25) CARSON R. Der stumme Frühling. München: Biederstein (1965).

26) CASIDA J.E. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. J. Agric. Food Chemistry 18 (5), 753-772 (1970).

27) CASIDA J.E. Prospects for new insecticides, in: The future for insecticides: needs and prospects, Metcalf R.L., McKelvey J.J. edit., Vol. 6, New York: Wiley (1976).

28) CHEN G., ENSOR C.R., The combined anticonvulsant activity and toxicity of dilantin and N-methyl-5-phenyl-succinimide. J. Lab. Clin. Med. 41, 78-83 (1953).

29) CHURCH R.M., COPAS L., WILLIAMS R.R., Changes in fruit set, leaf size and shoot growth of apple caused by some fungicides, insecticides and a plant growth regulator. J. horticult. Science 59 (2), 161-164 (1984).

30) CLARK D.R., LAVAL R.K., SWINEFORD D.M., Dieldrin-induced mortality in an endangered species, the grey bat (Myotis grisescens). Science 199, 1357-1359 (1978).

31) CLAUSEN C.P. Biological control of insect pests in the continental United States. Technical Bulletin No . 1139, U.S. Departm. Agric., Washington D.C.: (1956).

32) COPE O.B. Interactions between pesticides and wildlife. Ann. Rev. Entomol. 16, 325-364 (1971).

33) CROFT B.A., BROWN A.W.A., Responses of arthropod natural enemies to insecticides. Ann. Rev. Entomol. 20, 285-335 (1975).

34) CURLEY A., COPELAND M.F., KIMBROUGH R.D., Chlorinated hydrocarbon insecticides in organs of stillborn and blood of newborn babies. Archives of Envir. Health 19, 628-632 (1969).

35) CZEIZEL A., TRINH V.B., SZABO I., RUZICSKA P., Human chromosome aberrations in acute organic phosphorus acid ester (pesticide) intoxication. Environm. Mutagen Soc., Europ. Branch, 3rd Ann. Meeting, Uppsala: (Juni 1973).

36) DEAN G.J. Effect of temperature on the cereal aphids Metopolophium dirhodum Wlk., Rhopalosiphum padi L. and Macrosiphum avenae F.. Bulletin Entom. Res. 63, 401-409 (1974).

37) DEDRYVER C.-A., TANGUY S., Biologie des pucerons des céréales dans l'ouest de la France. V. Influence de la date de semis du blé d'hiver sur les modalités d'infestation des parcelles par R. padi L., Sitobion avenae F. et M. dirhodum Wlk. et sur le développement de leurs populations au printemps. Agronomie 4(8), 711-719 (1984).

38) DEVONSHIRE A.L. Studies of the carboxylesterases of Myzus persicae resistant and susceptible to organophosphorus insecticides. Proc. of the 8th British Insecticide and Fungicide Conf. Vol. 1 Br. Crop Prot. Counc., London: (Nov. 1975).

39) DEVONSHIRE A.L. Studies of the acetylcholinesterase from houseflies (Musca domestica L.) resistant and susceptible to organophosphorus insecticides. Biochem. J. 149, 463 (1975).

40) DILLS L.E., MENUSAN H. jr., A study of some fatty acids and their soaps as contact insecticides. Contrib. Boyce Thompson Inst. 7, 63-82 (1935).

41) DIMOCK M.B., KENNEDY G.G., WILLIAMS W.G., Toxicity studies of analogs of 2-tridecanone, a naturally occurring toxicant from a wild tomato. J. Chem. Ecology 8 (5), 837-842 (1982).

42) DOSKOTCH R.W., EL FERALY F.S., Can. J. Chem. 47, 1139 (1969).

43) EDWARDS C.A., THOMPSON A.R., Pesticides and the soil fauna. Residue Rev. 45, 1 (1973).

44) ELLIOTT M. The future for insecticides, in: Insect biology in the future, Locke M., Smith D.S. edit., New York: Academic Press (1980).

45) FARNHAM A.W. Genetics of resistance of pyrethroid selected houseflies, Musca domestica L.. Pestic. Science 4, 513 (1973).

46) FINDHOLT S.L. Organochlorine residues, eggshell thickness and reproductive success of Snowy Egrets nesting in Idaho. The Condor, The Cooper Ornithol. Soc. 86, 163-169 (1984).

47) FISHER R.A., YATES F., Statistical tables. Edinburgh: Oliver & Boyd (1957).

48) FORGASH A.J. Insecticide resistance of the Colorado Potato Beetle, Leptinotarsa decemlineata, in: Advances in potato pest management, Lashomb J.H., Casagrande R. edit., Stroudsberg Pennsylv.: (1981).

49) FORGASH A.J. History, evolution and consequences of insecticide resistance. Pesticide Biochem. Physiol. 22, 178-186 (1984).

50) FORRESTER N.W. Phytotoxicity of isazophos, lindane and heptachlor to sorghum applied as in-furrow and broadcast-incorporated treatments. Crop Protection 3 (2), 261-264 (1984).

51) FRANZ J.M., KRIEG A., Biologische Schädlingsbekämpfung, 3. Aufl., Berlin: Parey (1982).

52) FRANZ J.M. Welche Nutzorganismen sind in Europa für den biologischen Pflanzen- und Gesundheitsschutz verfügbar? Anzeiger Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz 57 (6), 105-111 (1984).

53) FROHNE D., PFÄNDER H.J., Giftpflanzen. Stuttgart: Wiss. Verlagsges. (1982).

54) FUHREMANN T.W., LICHTENSTEIN E.P., Insecticide toxicity and degradation in houseflies as affected by naturally occurring food plant components. J. Agr. Food Chem. 27 (1), 87-91 (1979).

55) FURTICK W.R. Insecticides in food production, in: The future for insecticides: needs and prospects, Metcalf R.L., McKelvey J.J. edit., New York: Wiley (1976).

56) GEORGHIOU G.P. Insecticide resistance and prospects for its management. Residue Rev. 76, 131-145 (1980).

57) GIBSON R.W. Glandular hairs providing resistance to aphids in certain wild potato species. Annals Appl. Biol. 68, 113-119 (1971).

58) GIBSON R.W. Aphid trapping glandular hairs on hybrids of Solanum tuberosum and S. berthaultii. Potato Res. 17, 152-154 (1974).

59) GNADINGER C.B. Pyrethrum flowers, 2nd ed. Minneapolis: McLaughlin Gormley King (1936) und Ergänzungsband (1945).

60) GÖCKERITZ D. Das ätherische Öl von Chrysanthemum balsamita L. var. balsamita. Die Pharmazie 23, 515-518 (1968).

61) GONZALES J., HERNANDEZ L.M., RICO M.C., BALUJA G., Residues of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and heavy metals in the eggs of predatory birds from Donana National Park (Spain) 1980-83. J. Environm. Sci. Health B19 (8&9), 759-772 (1984).

62) GREENWAY A.R., GRIFFITH D.C., LLOYD S.L., Response of Myzus persicae to components of aphid extracts and to carboxylic acids. Entomologia experim. et appl. 24, 169-174 (1978).

63) GROSSE-WICHTRUP L., Cereal aphid control in winter wheat by red clover underseed: an integrated pest management approach within the Lautenbach-project, in: 17th International Congress of Entomology, Abstract Vol., P20.-3, Hamburg: (1984).

64) HANSEN W. Stickstoffdüngung - Phloemsaft - Fruchtbarkeit von Getreideblattläusen. Arbeitskreissitzg. "Wechselwirkungen zwischen Insekt und Pflanze", Hohenheim: (April 1985).

65) HARRIS L.E. Chemical studies in Oklahoma plants. VI. Physalis mollis Nuttall - a plant insecticide. J. Amer. Pharmac. Assoc. 37, 145-146 (1948).

66) HARTZELL A. Additional tests of plant products for insecticidal properties and summary of results to date. Contrib. Boyce Thompson Inst. 15, 21-34 (1946).

67) HARVEY M.T., CAPLAN S., Cashewnußschalenöl, Chem. Zentralblatt 53 II, 1480 (1941).

68) HEAL R.E., ROGERS E.F., WALLACE R.T., STARNES O., A survey of plants for insecticidal activity. Lloydia 13 (2), 89-162 (1950).

69) HEGI G. Illustrierte Flora von Mitteleuropa. München: J.F. Lehmanns (1906-1908), Bd. V 4 (1927), Bd. III 1 (1957).

70) HENRY B.S. Composition and characteristics of dill: a review. Perfumer & Flavorist 7, 39-44 (1982).

71) HOLMAN H.J. edit., Insecticide materials of vegetable origin, S. 140. London: Imperial Inst., Plant and Animal Products Dept. (1940).

72) HOPPE H.A. Drogenkunde, 7. Aufl., S. 218. Hamburg: (1958).

73) IMAI S., TOYOSATO T., SAKAI M., SATO Y., FUJIOKA S., MURATA E., GOTO M., Screening results of plants for phytoecdysones. Chem. Pharm. Bulletin 17 (2), 335-339 (1969).

74) JACOBSON M., CROSBY D.G., Naturally occurring insecticides. New York: Marcel Dekker (1971).

75) JACOBSON M. Plants, insects and man - their interrelationship. Economic Botany 36 (3), 346-354 (1982).

76) JAGER K.W. Aldrin, dieldrin, endrin and telodrin: an epidemiological and toxicological study of long-term occupational exposure. Elsevier, 234 f.Amsterdam: (1970).

77) JEDLICKA V., HERMANSKA Z., SMIDA I., KOUBA A., Paramyeloblastic leukaemia appearing simultaneously in blood cousins after simultaneous contact with gammexane (hexachlorcyclohexan). Acta Medica Scandinavica 161 (6), 447-451 (1958).

78) JIZBA J., HEROUT V., ŠORM F., Polypodine B - a novel ecdysone-like substance from plant material. Tetrah. Letters 51, 5139-5143 (1967).

79) JOHNSON B. The injurious effects of the hooked epidermal hairs of French Beans (Phaseolus vulgaris L.) on Aphis craccivora K. Bulletin Entom. Res. 44, 779-788 (1953).

80) KARRER W. Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exclusiv Alkaloide), 1. Aufl. Stuttgart: Birkhäuser (1958).

81) KHAN S.U., STRATTON G.D., WHEELER W.B., Characterization of bound (nonextractable) residues of dieldrin, permethrin and carbofuran in radishes. J. Agric. Food Chem. 32, 1189-1191 (1984).

82) KLINGAUF F., BESTMANN H.J., VOSTROWSKY O., Occurrence of insecticidal substances in native and introduced plants of central Europe. 17th Intern. Congress of Entomology, Abstract Vol., 871, Hamburg: (1984).

83) KNIPLING E.V., KLASSEN W., Influence of insecticide use patterns on the development of resistance to insecticides - a theoretical study. The Southwestern Entomologist 9 (3), 351-368 (1984).

84) KOBOLD U. Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen an insektizid wirkenden ätherischen Ölen und Pflanzenextrakten. Dissertation, Erlangen: (1987).

85) KOBOLD U., VOSTROWSKY O., BESTMANN H.J., BISHT J.C., PANT A.K., MELKANI A.B., MATHELA C.S., Terpenoids from Elsholtzia species II. Constituents of essential oil from a new chemotype of Elsholtzia cristata Willd. Planta medica, 268-271 (1987).

86) KOCH W.D.J. Koch's Synopsis der Deutschen und Schweizer Flora II, 3. Aufl., Leipzig: Reisland (1902).

87) KREITZER J.F., HEINZ G.H., The effect of sublethal dosages of five pesticides on the avoidance response of Coturnix chicks. Environm. Pollution 6, 21-29 (1974).

88) LAW J.H., REGNIER F.E., Pheromones. Ann. Rev. Biochem. 40, 533-548 (1971).

89) LEWIS G.A., MADGE D.S., Esterase activity and associated insecticide resistance in the damson-hop aphid, Phorodon humuli. Bulletin Entom. Res. 74, 227-238 (1984).

90) LICHTENSTEIN E.P., LIANG T.T., SCHULZ K.R., SCHNOES H.K., CARTER G.T., Insecticidal and synergistic components isolated from dill plants. J. Agric. Food Chem. 22 (4), 658-664 (1974).

91) LITCHFIELD J.T., WILCOXON F., A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Theor. 96, 99-119 (1949).

92) LUCKENS M.M., DAVIS W.H., Bats: sensitivity to DDT. Science 146, 948 (1964).

93) MABRY T.J., GILL J.E., Sesquiterpene lactones and other terpenoids, in: Herbivores, their interaction with secondary plant metabolites, Rosenthal G.A., Janzen O.H. edit. New York: Academic Press (1979).

94) MARCUS C., LICHTENSTEIN E.P., Biologically active components of anise: toxicity and interactions with insecticides in insects. J. Agric. Food Chem. 27 (6), 1217-1223 (1979).

95) MAXWELL F.G., JENKINS J.N., PARROTT W.L., Resistance of plants to insects. Advances in Agronomy 24, 187-265 (1972).

96) METCALF R.L. Changing role of insecticides in crop protection. Ann. Rev. Entomol. 25, 219 (1980).

97) NAKANISHI K. Insect antifeedants from plants, in: Insect biology in the future, Locke M., Smith D.S. edit., New York: Academic Press (1980).

98) NAULT L.R., BOWERS W.S., Multiple alarm pheromones in aphids. Entomologia experim. et appl. 17, 455-457 (1974).

99) NAUMANN K. Chemie der synthetischen Pyrehtroid-Insektizide, in der Reihe: Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel, Bd. 7, Wegler R. edit., Berlin: Springer (1981).

100) NORDLUND D.A. Semiochemicals: a review of the terminology, in: Semiochemicals: their role in pest control, Nordlund D.A., Jones R.L., Lewis W.J. edit., New York: Wiley (1981).

101) OBERDORFER E. Pflanzensoziologische Exkursionsflora, 5. Aufl., Stuttgart: Ulmer (1983).

102) OPPENOORTH F.J. Development of resistance, in: The future for insecticides: needs and prospects, Metcalf R.L., McKelvey J.J. edit., New York: Wiley (1976).

103) OPPENOORTH F.J., SMISSAERT H.R., WELLING W., VAN DER PAS L.J.T., HITMAN K.T., Insensitive acetylcholinesterase, high glutathion-S-transferase and hydrolytic activity as resistance factors in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly. Pesticide Biochem. Physiol. 7, 34 (1977).

104) OTTOW J.C.G. Pestizide - Belastbarkeit, Selbstreinigungsvermögen und Fruchtbarkeit von Böden. Landwirtsch. Forschung 35 (3-4), 238-256 (1982).

105) PANASIUK O. Response of Colorado Potato Beetles (Leptinotarsa decemlin. Say to volatile components of tansy, Tanacetum vulgare. J. Chem. Ecol. 10 (9), 1325-1333 (1984).

106) PAWLOWSKA L. Flavonoids in the leaves of Polish species of the genus Betula L. I. The flavonoids of B. pendula Roth. and B. obscura Kot. leaves. Acta Soc. Botan. Polon. 49 (3), 281-296 (1980).

107) PENMAN D.R., CHAPMAN R.B., Woolly apple aphid outbreak following use of fenvalerate. J. Econ. Entomol. 73, 49-51 (1980).

108) PETRISCHEVA P.A., Plant insecticides. Amer. Rev. Soviet Med. 2, 471-473 (1945).

109) PIMENTEL D. Ecological effects of pesticides on non-target species. Execut. Office of the President, Off. Science Technol., Washington D.C.: US Govt. Printing Off. (1971).

110) PIMENTEL D., BELLOTTI A.C., Parasite host population systems and genetic stability. Americ. Nat. 110, 877 (1976).

111) POST G., SCHROEDER T.R., The toxicity of four insecticides to four salmon species. Bulletin Envir. Contam. Toxicol. 6, 144-155 (1971).

112) PROKOPY R.J. Epideictic pheromones that influence spacing patterns of phytophagous insects, in: Semiochemicals. Their role in pest control, Nordlund D.A., Jones R.L., Lewis W.J. edit., New York: Wiley (1981).

113) RADHAKRISHNAN C.V., THOMPSON N.P., FORRESTOR D.J., Susceptibility of chickens fed p,p'-DDT to histomoniasis. Bulletin Envir. Contam. Toxicol. 8, 147 (1972).

114) RHOADES D.F., CATES R.G., Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. Recent Adv. Phytochem. 10, 168-213 (1976).

115) RIEDL H., HOYING S.A., Impact of fenvalerate and diflubenzuron on target and non-target species. J. Econ. Entomol. 73, 117-122 (1980).

116) ROBINSON B.L., FERNALD M.L., Gray's new manual of botany, 7th ed., p. 847, New York: American Book (1906).

117) ROUGHAN J.A., ROUGHAN P.A., Pesticide residues in foodstuffs in England and Wales. I: Inorganic bromide ion in lettuce grown in soil fumigated with bromomethane. Pesticide Science 15, 431-438 (1984).

118) SACHS L. Angewandte Statistik, 6. Aufl., Berlin: Springer (1984).

119) SAHAI M., RAY A.B., Secotropane alkaloids of Physalis peruviana. J. Organic Chem. 45 (16), 3265-3268 (1980).

120) SAHAI M., GOTTLIEB H.E., RAY A.B., ALI A., GLOTTER E., KIRSON I., Perulactone B, a new natural ergostane-type steroid with an α-oriented side chain. J. Chem. Res. (S), 3265-3268 (1980).

121) SAWICKI R.M., DEVONSHIRE A.L., RICE A.D., MOORES G.D., PETZING S.M., CAMERON A., The detection and distribution of organophosphorus and carbamate insecticide-restistant Myzus persicae in Britain in 1976. Pestic. Sci. 9, 189 (1978).

122) SCHMIALEK P. Die Identifizierung zweier im Tenebriokot und in Hefe vorkommender Substanzen mit Juvenilhormonwirkung. Zeitschr. Naturforschung 16 b, 461-464 (1961).

123) SCHMIDT G.H. Pestizide und Umweltschutz. Braunschweig: Vieweg (1986).

124) SCOTT T.G., WILLIS Y.L., ELLIS J.A., Some effects of a field application of dieldrin on wildlife. J. Wildlife Managem. 23, 409-427 (1959).

125) SHERWOOD M H. GREENWAY A.R., GRIFFITH D.C., Response of Myzus persicae to plants treated with fatty acids. Bulletin Entomol. Res. 71, 133-136 (1981).

126) SIDDIQUI M.K.J., SAXENA M.C., BHARGAVA A.K., SETH T.D., KRISHNAMURTI C.R., KUTTY D., Agrochemicals in the maternal blood, milk and cord blood: a source of toxicants for prenates and neonates. Environmetal Research 24, 24-32 (1981).

127) SLAMA K. Plants as a source of materials with insect hormone activity. Entomologia experim. et appl. 12, 721-728 (1969).

128) SLAMA K., ROMANUK M., SORM F., Insect hormones and bioanalogues. Wien: Springer (1974).

129) SMITH R.F. Insecticides and integrated pest management, in: The future for insecticides: needs and prospects, Vol. 6, Metcalf R.L., McKelvey J.J. edit., New York: Wiley (1976).

130) SODERLUND D.M., SANBORN J.R., LEE P.W., Metabolism of pyrethrins and pyrethroids in insects, in: Progress in pesticide biochemistry and toxicology, Vol. 3, Hutson D.H., Roberts T.R. edit., New York: Wiley (1983).

131) STEIN U., KLINGAUF F., persönl. Mitteilung (1987).

132) STROBEL H., KNOBLOCH K., ZIEGLER E., Über die ätherischen Öle von Chrysanthemum balsamita L. Z. Naturforsch., 42c, 502 (1987).

133) SWAIN T. Secondary compounds as protective agents. Ann. Review Plant Physiol. 28, 479-501 (1977).

134) TAKADA H. Esterase variations in Japanese populations of Myzus persicae (Hom.: Aphididae), with special reference to resistance to organophosphorus insecticides. Appl. Entomol. & Zool. 14, 245-255 (1979).

135) TEUSCHER E. Pharmazeutische Biologie, 3. Aufl., Braunschweig: Vieweg (1983).

136) TEWARI G.C., MOORTHY P.N.K., Selective Toxicity of some synthetic pyrethroids and conventional insecticides to aphid predator Menochilus sexmaculatus. Indian J. Agric. Sciences 55 (1), 40-43 (1985).

137) ULLRICH V., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 11, 701 (1972).

138) UNKELBACH H.D., WOLF T., Qualitative Dosis-Wirkungs-Analysen, in der Reihe: Biometrie, Bd. 2, Stuttgart: Fischer (1985).

139) VOIGT R.F., ROGERS C.H., FISCHER E.B., A pharmacognostic study of Chrysanthemum balsamita L., var. tanacetoides Boiss., together with a study of its volatile oil. J. Amer. Pharmac. Assoc. 27 (8), 643-654 (1938).

140) WAGNER H. Pharmazeutische Biologie. Drogen und ihre Inhaltsstoffe, 2. Aufl., Stuttgart: Fischer (1982).

141) WARE G.W. Pesticides and non-target organisms. Residue Reviews 76, 173-201 (1980).

142) WATS R.C., BHARUCHA K.H., Larvicides for antimosquito work, with special reference to cashew nut shell oil. J. Malar. Inst. India 1 (2), 217-219 (1938).

143) WORLD HEALTH ORGANIZATION, Recommended classification of pesticides by hazard. WHO Chronicle 29, 397-401 (1975).

144) WILKINSON C.F., METCALF R.L., FUKUTO T.R., Some structural requirements of methylenedioxyphenyl derivatives as synergists of carbamate insecticides. J. Agric. Food Chem. 14, 73-79 (1966).

145) WILLIAMS C.M. Third generation pesticides. Scientific American 217 (1), 13-17 (1967).

146) WOLBIS M. Investigation of Chrysanthemum balsamita. Acta Polon. Pharm. 36 (6), 707-714 (1979).

147) WOOD B., PAYNE J., Influence of single applications of insecticides on net photosynthesis of Pecan. Hort Science 19 (2), 265-266 (1984).

148) YAMAMOTO I., KIMMER E.C., CASIDA J.E., Oxidative metabolism of pyrethroids in houseflies. J. Agric. Food Chem. 17, 1227-1236 (1969).

L e b e n s l a u f

Beate Luise Claßen

geb. 11. 01. 1957	in Karlsruhe, als Tochter des Gartenbauinspektors Heinrich Claßen und seiner Ehefrau Lydia, geb. Pauli
Frühjahr 1964 bis Sommer 1967	Besuch der Hauptschule in Karlsruhe-Grünwinkel
Herbst 1967 bis Januar 1972	Besuch des Lessing-Gymnasiums, Karlsruhe
Februar 1972 bis Mai 1976	Besuch des Hardenberg-Gymnasiums, Fürth Abschluß mit dem Reifezeugnis
ab November 1976	Biologie-Studium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
März 1979	Absolvierung der Diplom-Biologen-Vorprüfung
Sommer 1981	Diplom-Biologen-Hauptprüfung in den Fächern Botanik, Mikrobiologie, Biochemie und Organische Chemie
Frühjahr 1981 bis August 1982	Diplomarbeit bei Prof. Dr. Karl Knobloch im Institut für Botanik und pharmazeutische Biologie und Aromagarten, Erlangen Thema: Die Ätherischen Öle der Weinraute (Ruta graveolens L.)
August 1982	Erlangung des Diplom-Grades
April bis Oktober 1982	Tätigkeit als studentische Hilfskraft im Aromagarten Erlangen
Januar 1983 bis Juli 1987	Promotion bei Prof. Dr. H.-J. Bestmann im Institut für Organische Chemie Thema: Pflanzeninhaltsstoffe als Alternativinsektizide

Offsetdruck · Fotodruck · Hogl · Hauptstraße 109 · 8520 Erlangen · Tel.09131/22990